

LIBRO DE ACTAS

INGENIERIA BIOMEDICA *avanzando hacia el futuro*

Ciudad Real, 21 - 23 noviembre de 2018



CASEIB

2018

XXXVI

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica





CASEIB

2018

XXXVI

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

LIBRO DE ACTAS



Ciudad Real, 21 - 23 de noviembre

Libro de Actas del XXXVI Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica
Libro de Actas CASEIB 2018

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 caseib.es/2018/

Editores técnicos:

Jesús Salido Tercero
Óscar Déniz Suárez

Editores científicos:

M^a del Milagro Fernández Carrobles
M^a Gloria Bueno García

Diseño gráfico:

Dora Isabel Sierra Palacio

Editorial:

Ediciones VISILAB
Avda. Camilo José Cela 3, 13005-Ciudad Real, España.
19 de noviembre de 2018
visilab.etsii.uclm.es

ISBN: 978-84-09-06253-9



CASEIB 2018

XXXVI Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Se distribuye bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-No Comercial-Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

PREÁMBULO

Estimados congresistas,

En nombre del Comité Organizador, es un privilegio darles la bienvenida al XXXVI Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB-2018) que se celebra del 21 al 23 de noviembre en el Paraninfo Luis Arroyo de la Universidad de Castilla-La Mancha en Ciudad Real.

CASEIB-2018 es el foro de referencia nacional para el intercambio científico-técnico de conocimiento, experiencias y promoción de la I+D+i en Ingeniería Biomédica. Es 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.

Confiamos en ofrecerles una nueva edición de CASEIB con numerosos trabajos de alto nivel científico en las áreas de: Procesado de Señal, Procesado de Imagen, Instrumentación Biomédica, Telemedicina, e-Health, Modelado de Sistemas, Sistemas Inteligentes, Robótica, Planificación y Simulación Quirúrgica, Biofotónica y Biomateriales. Cabe destacar que una vez más se llevarán a cabo las sesiones dedicadas a la competición por el Premio José María Ferrero Corral, y la Competición de alumnos de Grado en Ingeniería Biomédica, que persiguen fomentar la participación de jóvenes estudiantes e investigadores.

Tendremos, además, el honor de contar con ponencias invitadas de científicos de reconocido prestigio. El Dr. Marcial García Rojo, jefe del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Puerta del Mar de Cádiz, nos expondrá los avances en el diagnóstico por imagen histológica gracias a la revolución de la patología digital; el Dr. Arnaud Runge, Ingeniero Biomédico de la Agencia Espacial Europea (ESA) nos ilustrará sobre los trabajos en telemedicina e instrumentación biomédica que dirige en la agencia. En la conferencia inaugural contaremos con la presencia de la Dra. Elena García Armada, científica titular del CSIC, que nos explicará su experiencia en el desarrollo del primer exoesqueleto biónico del mundo para niñas y niños con atrofia muscular espinal. Finalmente, la conferencia de clausura será a cargo del Dr. Pere Caminal Magrans que nos presentará una perspectiva de los últimos 40 años de la Ingeniería Biomédica en España.

El programa científico se complementará con dos mesas redondas, la primera sobre los retos y experiencias en la transferencia tecnológica en Ingeniería Biomédica, y la segunda sobre salidas profesionales de la Ingeniería Biomédica. Como novedad se publicarán los mejores trabajos en un número especial de la revista *Entropy*. *Entropy* es una revista de acceso abierto y con factor de impacto lo que permitirá dar a conocer a un foro más amplio el trabajo que se está realizando en España dentro de la Ingeniería Biomédica.

Deseamos que este CASEIB sea fructífero para todos los participantes y que encuentren en estas tierras Castellano-Manchegas inspiración para seguir avanzando hacia el futuro de la Ingeniería Biomédica.



M^a Gloria Bueno García
Presidenta del Comité Organizador del CASEIB-2018



COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta:

M^a Gloria Bueno García

Secretaría Técnica:

José Luis Espinosa Aranda

Secretaría de Organización:

Noelia Vállez Enano

Secretaría Científica:

M^a del Milagro Fernández Carrobles

Vocales:

Raúl Alcaraz Martínez

Óscar Déniz Suárez

Jesús Salido Tercero

Colaboradores:

Nieves Lajara Sánchez

Javier Parra Patiño

Aníbal Pedraza Dorado

José María Rico Saavedra

Rosana Rodríguez Bobada

Jesús Ruiz-Santaquiteria Alegre

Dora Isabel Sierra Palacio

Alberto Velasco Mata

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente:

Raimon Jané Campos
Universidad Politécnica de Catalunya

Secretaria:

M^a del Milagro Fernández Carrobles
Universidad de Castilla-La Mancha

Vocales

Begoña Acha Piñero
Universidad de Sevilla

Raúl Alcaraz Martínez
Universidad de Castilla-La Mancha

Elisabete Aramendi Ecenarro
Universidad del País Vasco

Sergio Arana Alonso
CEIT-TECNUN, San Sebastián

José Luis Arce Diego
Universidad de Cantabria

M^a Gloria Bueno García
Universidad de Castilla-La Mancha

César Cáceres Taladriz
Universidad Rey Juan Carlos

Pere Caminal Magrans
Universidad Politécnica de Catalunya

Manuel Desco Menéndez
Universidad Carlos III de Madrid

Félix Fanjul Vélez
Universidad de Cantabria

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

Roberto Hornero Sánchez
Universidad de Valladolid

Unai Irusta Zarandona
Universidad del País Vasco

Pablo Laguna Lasao
Universidad de Zaragoza

Carlos Monserrat Aranda
Universidad Politécnica de Valencia

Maite Mujika Garmendia
CEIT-TECNUN, San Sebastián

Jesús Poza Crespo
Universidad de Valladolid

Javier Reina Tosina
Universidad de Sevilla

José Joaquín Rieta Ibáñez
Universidad Politécnica de Valencia

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

Francisco M. Sánchez Margallo
C.C.M.I. Jesús Usón

Daniel Sánchez Morillo
Universidad de Cádiz

Andrés Santos Lleó
Universidad Politécnica de Madrid

Carmen Serrano Gotarredona
Universidad de Sevilla

José María Tormos Muñoz
Instituto Guttman

Noelia Vallez Enano
Universidad de Castilla-La Mancha

Montserrat Vallverdu Ferrer
Universidad Politecnica de Catalunya

Juan José Vaquero
Universidad Carlos III de Madrid

ORGANIZADORES



AVALADO POR



International Federation for Medical and Biological Engineering

PATROCINADO POR



IFMBE



Departamento de Ingeniería Eléctrica, Electrónica, Automática y Comunicaciones



ÍNDICE DE SESIONES CIENTÍFICAS

Miércoles, 21 de noviembre

Sesión: Imagen Biomédica I

On the Construction of Non Linear Adjoint Operators: Application to L1-Penalty Dynamic Image Reconstruction	3
Reproducibilidad y respuesta durante estrés pasivo de la técnica Arterial Spin Labeling en el miocardio	7
Implications of magnetic resonance resolution in the generation of 3D patient-specific models after myocardial infarction.....	11
Método para la corrección de radiación dispersa a través de un beam-stopper en radiografía plana	15

Sesión: Imagen Biomédica II

Segmentación de imágenes de Resonancia Magnética de la médula espinal cervical en pacientes de Esclerosis Múltiple	21
Clasificación de superpíxeles para la detección automática de lesiones rojizas en imágenes de fondo de ojo	25
Evaluación automática de la calidad en retinografías mediante clasificación de características globales de imágenes.....	29
Desarrollo de una Herramienta para la Detección Automática del Plano Valvular Mitral Mediante Algoritmos de Deep Learning	33

Sesión: e-Salud/Bioinformática I

Extracción de datos mediante procesamiento de lenguaje natural en terapias de adicción a cocaína	39
Desarrollo de una herramienta para la identificación de pacientes crónicos complejos utilizando métodos estadísticos y algoritmos de aprendizaje automático	43
Análisis de correspondencias para el estudio de la sensibilidad antibiótica de gérmenes en la UCI	47
Modelo multicriterio para la optimización del mantenimiento en los sistemas de respiración asistida de neonatología.....	51

Sesión: e-Salud/Bioinformática II

Promoción de la actividad física en personas mayores mediante las nuevas tecnologías: prueba de concepto	57
--	----

Interfaz Cerebro-Ordenador para el Control de las Funcionalidades de un Teléfono Móvil	61
Virtual visit through augmented reality applications for people with blindness	65

Sesión: Sesión Póster I

Plataforma TIC RoboAGE para la promoción del envejecimiento activo a través de Serious Games.....	71
Comparative evaluation of physical activity parameters based on wrist-wearable devices	75
Andamios celulares con función gradiente fabricados mediante impresión 3D para implantes hueso-ligamento	79

Sesión: Procesado de Señal I

On the Bipolar Electrograms Obtained from Electrocardiographic Imaging.....	85
Validación técnica y clínica de sensores inerciales para la valoración del rango articular de codo y muñeca.....	89
Diagnóstico del Ritmo Cardíaco durante la Resucitación Cardiopulmonar Administrada mediante una banda de distribución de carga	93
Relación entre la variabilidad del ritmo cardiaco y la fatiga en jugadores de baloncesto profesionales	97

Sesión: Procesado de Señal II

Método sencillo y eficiente para la eliminación de la interferencia de red en el ECG usando la transformada Wavelet	103
Predicción de Recurrencias Tras Cardioversión Eléctrica de Fibrilación Auricular Persistente Mediante Índices No Lineales Aplicados al Electrocardiograma.....	107
Diferencias morfológicas en ECG de adultos que tuvieron Crecimiento Intrauterino Retardado ..	111
Combinación de Filtrado Notch y Transformada Wavelet para Mejorar la Reducción del Ruido de Red en Electrogramas de Fibrilación Auricular	115
Detección automática de calidad de electrogramas para la identificación de reentradas eléctricas durante fibrilación auricular mediante mapa de fase 3D	119

Sesión: Sistemas

Influencia de la corriente de estimulación en las diferencias entre simulaciones electrofisiológicas de célula y tejido	125
Comparison study of boundary conditions in the computational simulation of an ureteral peristalsis bolus	129
Efecto del monóxido de carbono en la generación de rotores. Estudio de simulación.....	133
Estudio in-silico de la cardiotoxicidad inducida por fármacos en células ventriculares sanas y con insuficiencia cardíaca.....	137

Definición de un Flujo de Trabajo para el Desarrollo de Modelos Computacionales Personalizados del Cerebro	141
Metodología experimental y resultados preliminares en la estimación termográfica de la fatiga operacional en operadores VTS (Vessel Traffic Service).....	145
Sesión: Biomecánica	
Clinical application of the upper limb motion analysis during wheelchair propulsion.	151
Método de calibración anatómica para la alineación de unidades de medida inercial con los ejes anatómicos de la extremidad superior	155
Sesión: Instrumentación	
Dispositivo de Interacción y Monitorización basado en Unidad de Medición Inercial en entornos de Realidad Virtual para Rehabilitación de la Extremidad Superior	161
Estudio electromiográfico de la musculatura de suelo pélvico infiltrado con toxina botulínica para el tratamiento del síndrome miofascial	165
Sesión: Educación	
Desarrollo de un modelo de tumor multimodal para investigación y formación en cirugía pancreática laparoscópica.....	171
Knowledge elicitation of pedagogical needs for TEL-based minimally invasive surgery learning of multiple skills	175
Sesión: Biomateriales	
Peptide coated poly(ϵ -caprolactone) generates antifouling surfaces for medical devices	181
A comparative study of bioprinting extrusion nozzles geometries	185

Sesión: Neuroingeniería

Aplicabilidad de Leap Motion Controller para el tratamiento de los déficits motores en pacientes tetrapléjicos	191
Localización de fuentes cerebrales para la caracterización de la demencia debida a enfermedad de Alzheimer	195
Interfaz tiflotécnica para explorar espacios interiores desde un único punto de observación	199
Design and implementation of a Virtual Reality platform for Upper Limb rehabilitation.....	203
Modelado computacional de bobinas para estimulación magnética transcraneal	207

Sesión: Biofotónica

Methodology to improve optical hyperthermia technique application in biological samples using Silica	213
Análisis de propiedades espectroscópicas de fluoróforos utilizados en el diagnóstico clínico	217
Innovative multiphotonic endoscope to address technological challenges in current colonoscopy procedure	221

Sesión: Sesión Póster II

Estudio de la evolución temporal de la resistencia antimicrobiana de gérmenes en la unidad de cuidados intensivos.....	227
Análisis de biomarcadores qEEG para la detección de convulsiones en neuropatologías de tipo epiléptico	231
A new virtual reality based environment for surgical training	235

Sesión: Premio José M^a Ferrero

Estudio del efecto de la conducción de volumen en medidas de conectividad funcional derivadas de la coherencia	241
New approaches to cancer treatment: microwire-based magnetic hyperthermia	245
Caracterización de la apnea del sueño infantil mediante nuevas bandas espectrales del EEG	249
Estudio de nuevos hidrogeles basados en mezclas de poli (vinil alcohol) (PVA) y quitosano (CS) reforzados con partículas inorgánicas de vidrio bioactivo.....	253
Diseño y desarrollo de un sistema para la detección automática de sangre en imágenes de cápsula endoscópica.....	257

Diseño y estudio de un escáner PET con cobertura 4Π	261
---	-----

Sesión: Sesión GIB

Understanding human response to tactile stimuli: A machine learning approach	267
Aging effects on resting state networks after an emotional memory task	271
Tissue Engineering for modeling Epidermolysis Bullosa Squamous Cell Carcinomas	275
PDMS Microfluidic Chip for Multiplexed Testing of Antibiotics against Tuberculosis	279
Gait analysis of knee osteoarthritis patients using DyCare Lynx	283
Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) assessment of iron oxidation states of nanoparticle clusters of amyloid cores of Alzheimer's Disease	287
Clasificación automática de planos ecográficos en ecografías prenatales	291
Caracterización del Electroencefalograma mediante Entropía Multiescala para la Detección de la Somnolencia	295
In silico optimization of left atrial appendage occluder implantation using interactive and modelling tools	299
Information Processing Organization of a Biological Neural Network	303
Desarrollo de una herramienta para la detección automática del plano valvular mitral mediante algoritmos de deep learning	307
Virtual reality applied to CROM measurement and rehabilitation	311
Design of a low-cost wireless hand rehabilitation device for stroke patients	315
Diseño y desarrollo de un modelo cardíaco 3d para la pedagogía en dispositivos cardiacos implantables	319
Characterization of graphene oxide doped with metal nanoparticles and its intrinsic antimicrobial properties	323
Caracterización histológica de la piel dorsal de ratones Wild type y transgénicos Sox2/GFP jóvenes y viejos en estado basal	327
Diseño, fabricación y validación de plataformas microfluidicas de difusión con membranas poliméricas integradas para el testeo de tratamientos basados en nanovehículos	331
Sistema de predicción del éxito de la inducción farmacológica basado en electrohisterografía ...	335
Desarrollo de un modelo para ajustar los cambios observados en la mutación R420Q del canal RyR2	339

Sesión: Imagen Biomédica III

Desarrollo de un sistema automático para la segmentación de estructuras glandulares en imágenes histológicas de próstata	345
Aplicación de técnicas de aprendizaje profundo (deep learning) a clasificación de imágenes histológicas	349

Experiments in Digital Pathology for Nuclei Detection with a Semantic Segmentation Deep Learning-based approach	353
Comparación de estrategias de machine learning clásico y de deep learning para la clasificación automática de estructuras glandulares en imágenes histológicas de próstata	357
Sclerotic Glomerulus detection in kidney Whole Slide Images based on Convolutional Neural Networks	361

Viernes, 23 de noviembre

Sesión: Procesado de Señal III

Evaluación de la actividad cardíaca mediante la señal seismocardiográfica registrada mediante un dispositivo inalámbrico portable	367
Optimización del algoritmo de clasificación supervisada KNN como herramienta de soporte para la implantación de estimuladores cerebrales profundos en pacientes con Parkinson	371
Arquitecturas de aprendizaje profundo para la detección de pulso en la parada cardíaca extrahospitalaria utilizando el ECG	375
Estudio de la Fibrilación Auricular en pacientes con Miocardiopatía Hipertrófica mediante técnicas de Análisis Multivariante	379

Imagen Biomédica I

Miércoles, 21 de noviembre

On the Construction of Non Linear Adjoint Operators: Application to L1-Penalty Dynamic Image Reconstruction

Santiago Sanz-Estébanez¹, Elisa Moya-Sáez¹, Javier Royuela-del-Val², Carlos 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 methodology for the adjoint operators application in non linear optimization problems. The use of adjoint operators is very popular for numerical control theory; one of its main applications is devised for image reconstruction. Most of these reconstruction techniques are limited to linear L1-constraints whose adjoints are well-defined. We aim to extend these image reconstruction techniques allowing the terms involved to be non linear. For these purpose, we have generalised the concept of adjoint operator under the basis of Taylor's formula, using Gâteaux derivatives in order to construct a linearised adjoint operator associated to the non linear operator. The proposed approach has been validated in a Magnetic Resonance Imaging (MRI) reconstruction framework with Cartesian subsampled k-space data using Compressed Sensing based techniques and a groupwise registration algorithm for motion compensation. The proposed algorithm has shown to be able to effectively deal with the presence of both physiological motion and subsampling artefacts, increasing accuracy and robustness of the reconstruction as compared with its linear counterpart.

1 Introduction

Adjoint operators play an important role in linear control systems theory as they provide duality between inputs and outputs for linear systems and can be easily calculated. For these reasons, adjoint operators have obtained a solid theoretical basis and have been applied to a broad range optimization problems for a fast gradient computation [1].

One of its many applications consists on the resolution of large-scale compressed sensing (CS) [2, 3] reconstruction problems. One the most popular algorithms is the well-known NESTA [4], since it has proven to be computationally efficient and flexible enough to many kinds of reconstruction problems. Nonetheless, its application is limited to linear operators due to the need of adjoint construction.

Non-linear adjoints have been thoroughly studied in [5, 6] with the purpose of generalizing adjoint theory to non-linear systems and different approaches. However, these extensions require prior information about the problem, so generalized non linear adjoint computation is far from being a straightforward issue. A review of the proposed

approaches for non linear adjoint construction on a broad scale has been presented in [7].

Image reconstruction is very concerned with time consumption since it is the major limitation for dynamic MRI studies. Several reconstruction techniques have been proposed to reduce the acquisition time [8]. However, this cost is not only restricted to the data acquisition time , specially if real-time reconstruction is sought. Traditional subsampled reconstruction formulations often carry a significant increasing of reconstruction times, which becomes a great inconvenience for real-time applications.

Several methods in the literature [9, 10] have also introduced some knowledge about motion to promote signal sparsity prior to the computation of the regularization term and accelerate the whole procedure. The underlying assumption is that a motion compensation (MC) step is expected to increase the sparsity of the reconstructed images, thus improving convergence of the algorithm.

As regularization, one of the most resorted it the well-known Total Variation (TV) [11, 12], both in temporal and spatial dimensions, since has traditionally provided good results in dynamic MRI reconstruction [13]. However, isotropic spatial TV is usually discarded in favour of its anisotropic counterpart due to its non linear nature, although it may result in a suboptimal noise removal. Differences between isotropic and anisotropic spatial TV can be observed in Fig. 1, showing better structure preservation in the isotropic one.

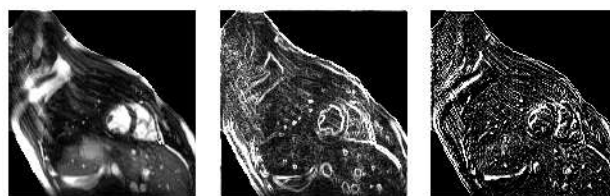


Figure 1. Short axis slice (left) and its corresponding isotropic and anisotropic spatial TV (center and right, respectively).

Therefore, in this paper we propose a new sparsity regularization term given by the inclusion of the linearised isotropic spatial TV of the deformation-corrected sequence. This regularization term has a twofold advantage, namely: avoids the presence of the reconstruction

artifacts, eliminating the need of additional spatial regularization and has convenient properties that facilitate the adjoint construction. The modified spatial TV has been applied to the reconstruction of 2D dynamic cine sequences with Cartesian subsampling.

2 Materials and Methods

2.1 Adjoint Construction

An operator $A^*(u)$ (applied over v) is called an adjoint operator corresponding to F if $A^*(u)$ satisfies the Lagrange's identity:

$$\langle F(u), v \rangle = \langle u, A^*(u)v \rangle, \quad (1)$$

for any u and v images. Notice that in this case, F is non linear, then there can exist several operators $A^*(u)$ satisfying (1). This ambiguity can be cured, to a certain extent [7], if we assume F having the following (linearised) representation:

$$F(u) = A(u)u. \quad (2)$$

Then, by applying Lagrange's formula we will obtain:

$$F(u) = \int_0^1 F'(tu)dt \cdot u = A(u)u \quad (3)$$

where F' represents the Gâteaux (directional) derivative [14] of the operator F (assuming $F(0) = F(1) = 0$) and t is an auxiliary variable defined in $\Omega = (0, 1)$.

Hence, we can obtain the linearised adjoint operator corresponding to the non linear operator F as follows:

$$A^*(u) = \left(\int_0^1 F'(tu)dt \right)^*. \quad (4)$$

which can be straightforward calculated. As an example, we will define isotropic spatial TV over an image u as:

$$F(u) = \Phi(u) = \left(\frac{\partial u}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial u}{\partial y} \right)^2, \quad (5)$$

where x and y represent each spatial coordinate (2D). Applying Gâteaux derivatives, we can extract:

$$F'(u)v = \frac{\partial u}{\partial x} \frac{\partial v}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial y} \frac{\partial v}{\partial y}. \quad (6)$$

Now, the following equation must hold:

$$\langle F'(u)u, u^* \rangle = \langle u, A^*(u)u^* \rangle, \quad (7)$$

where u^* stands for the input image of the adjoint. Notice all operators in (7) are linear, therefore, parenthesis show parameter dependence, not application. Hence, the adjoint $A^*(u)u^*$ can be easily obtained by integration by parts:

$$A^*(u)u^* = -\frac{\partial u}{\partial x} \frac{\partial u^*}{\partial x} - \frac{\partial u}{\partial y} \frac{\partial u^*}{\partial y} - u^* \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} \frac{\partial^2 u}{\partial y^2}. \quad (8)$$

The adjoint depends on u , which is the input of the non linear operator F ; therefore, this variable has to be stored each time the operator is called for its subsequent use.

2.2 Motion Compensated Compressed Sensing Reconstruction

As a case of use of the proposed adjoint construction methodology, we have posed the reconstruction of subsampled MRI data, which can be generally formulated as a common inversion problem:

$$\mathbf{y} = \mathbf{E}\mathbf{m}, \quad (9)$$

where \mathbf{y} stands for the acquired multi-coil k-t space data, \mathbf{m} represents the sequence of images to be reconstructed and the encoding operator \mathbf{E} which comprises the multiplication by the coils sensitivity maps and the subsampled spatial Fourier transform. If motion is accounted for [15], the reconstruction problem then results in:

$$\underset{\mathbf{m}}{\operatorname{argmin}} \{ \|\mathbf{y} - \mathbf{E}\mathbf{m}\|_2^2 + \lambda \|\Phi(\mathbf{T}_\theta \mathbf{m})\| \} \quad (10)$$

with Φ a TV (either isotropic or anisotropic) sparsifying transform and λ the trade off parameter. \mathbf{T}_θ is a warping operator governed by the set of parameters θ which represents the motion compensating transformation. The anisotropic spatial TV term has been defined as follows:

$$\Phi u = \left| \frac{\partial u}{\partial x} \right| + \left| \frac{\partial u}{\partial y} \right|. \quad (11)$$

This transformation is obtained from a groupwise (GW) registration algorithm which make use of a dissimilarity metric based on the sum of squared differences (SSD) between the images and a template which is built from all the images that conform the sequence, thus avoiding template biases [16]. The transformation consists on a non-rigid 2D+t free form deformation (FFD) with B-splines, which describes motion and deformation of anatomical structures [17]. We have solved the registration problem by means of a non linear conjugate gradient algorithm with backtracking line search [18].

Solving (10) involves a high computational cost [19]. To this end, we have resorted to the aforementioned NESTA algorithm, on which the adjoint method formulates the gradient of the functional towards its parameters θ in the constrained optimization formulation.

We have resorted to a multi-resolution scheme [13] in which coarser reconstructions serve as initialization for the finer ones. An initial sequence is obtained by a regular CS reconstruction equivalent to solving (10) with \mathbf{T}_θ as the identity and Φ a temporal TV regularization transform. From the obtained sequence, motion is estimated with the GW registration algorithm. This deformation is introduced in the next reconstruction, which uses isotropic spatial TV as regularization. Fig. 2 sketches the whole procedure.

A healthy volunteer was scanned on a 3T Philips scanner with a 32-element cardiac coil. In this case a regular, fully-sampled 2D breath hold cardiac cine MRI study was acquired. The fully sampled data was retrospectively subsampled using a Gaussian variable-density random subsampling pattern along the phase encoding direction. Other relevant scan parameters are: b-SSFP se-

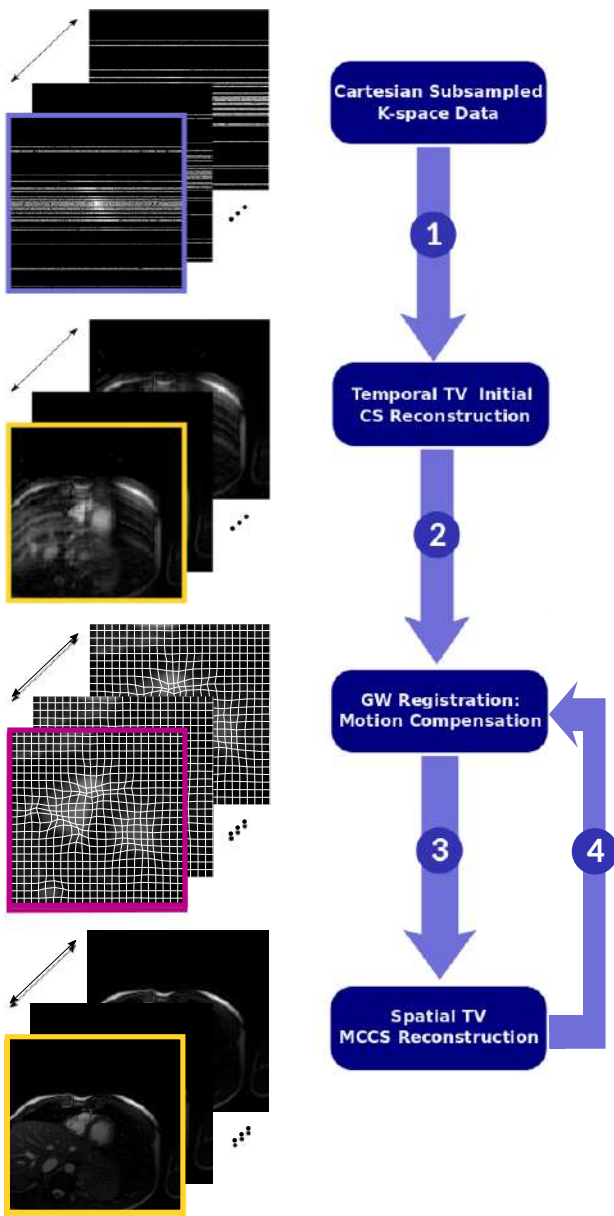


Figure 2. Iterative reconstruction procedure with motion compensation. M CCS reconstruction step has been performed thrice, although acceptable results were obtained at second iteration.

quence, $T_R/T_E/\text{flip angle} = 3.3\text{ms}/1.57\text{ms}/45^\circ$, $\text{FOV} = 320 \times 320 \text{ mm}^2$ and slice thickness = 8 mm.

3 Results and Discussion

In the first experiment, convergence of the optimization procedure has been analysed, both with isotropic and anisotropic spatial TV regularization. Subsampling rate has been set to 8 for both problems. First reconstruction has been performed using temporal TV for both approaches. The number of iterations has been fixed for the subsequent reconstructions. Mean cost per iteration for the isotropic approach has been 1.1920 s, whereas for the anisotropic it has been 0.9964 s. However, motion estimation required less iterations with the isotropic TV (15 % less approximately). Thus, we have obtained a similar time consumption cost for both approaches. In Fig. 2, it has been plotted the evolution of the cost of the likelihood

term (see (10)) for each iteration.

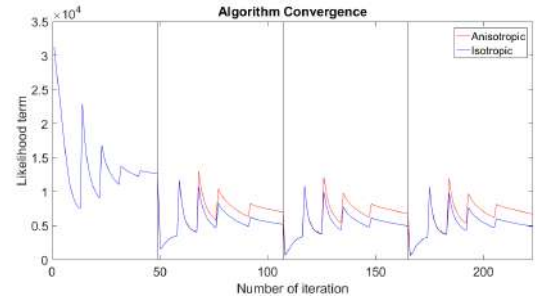


Figure 3. Evolution of the likelihood term (cost functional) for both isotropic and anisotropic approaches. Vertical black lines separate the different reconstruction steps.

From Fig. 3, we can extract that for same number of iterations, isotropic approach allows higher decreasing of the likelihood term as compared with its anisotropic counterpart, although neither of these approaches have shown a monotonically behaviour. Furthermore, the isotropic approach have also shown better figures in terms of signal-to-error ratio (27.297 dB vs. 26.062 dB) and structural similarity (SSIM) index (0.8682 vs. 0.8234) yielding higher reconstruction quality.

Fig. 4 compares results of both reconstructions by visual inspection of single frames at systolic and diastolic cardiac phases. For the isotropic TV approach sharper edges and thinner details can be observed in the ventricles while more homogeneous contrast is obtained inside the myocardium. On the other hand, for the anisotropic TV reconstruction, it can be observed that suboptimal convergence has lead to a more blurred reconstruction as well as subsampling artifacts which have not been fully removed (the reconstruction itself has not introduced any significant artifact).

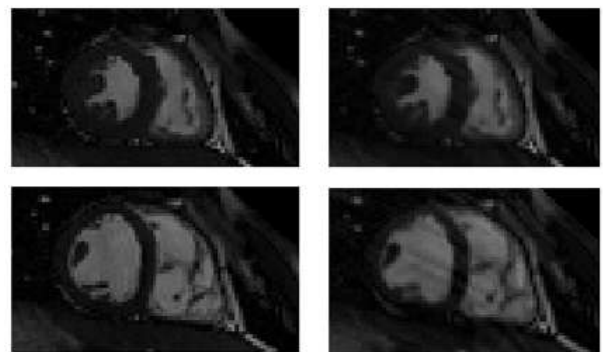


Figure 4. Sample frames for the isotropic (left) and anisotropic (right) approaches at diastole (bottom) and systole (up).

Images show higher intensity variation for the anisotropic approach reconstruction, which have been diminished in the isotropic one. This could be caused by the fact the some directions of the estimated cardiac motion are being favoured, so noise removal is not properly (isotropically) performed, thus obtaining motion artifacts in the others. Hence, we can also extract poor intermediate reconstructions may lead to motion estimation errors, which translate to the final solution, leading to this kind of motion artifacts.

4 Conclusions and Future Work

We have presented a framework for the linearised adjoint operators construction based on Gâteaux derivatives. The construction of adjoint operators allows a numerical method for efficiently computing the gradient of a function or operator in a numerical optimization problem; thus drastically reducing computational complexity. Besides, the framework is highly parallel and reconstruction times can be drastically reduced by the use of modern platforms such as GPUs.

We have also develop a multiresolution scheme for the MCCA reconstruction of MRI using non linear constraints and shown its application to cardiac function imaging. Performance has demonstrated to be satisfactory showing good convergence and higher artifact removal ability when compared to its anisotropic counterpart. Although its application in practice is far away, we hope the proposed framework may help in the development of high quality real-time [20] imaging.

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] VI. Pupko, AV. Zrodnikov, and YI. Likhachev. *Method of Adjoint Functions in Engineering Physics*. Energoatomizdat, Moscow, 1984.
- [2] M. Lustig, D. Donoho, and JM. Pauly. Sparse MRI: The Application of Compressed Sensing for Rapid MR Imaging. *Magn Reson Med*, 58(6):1182–1195, 2007.
- [3] EJ. Candes and MB. Wakin. An Introduction To Compressive Sampling. *IEEE Sig Proc Mag*, 25(2):21–30, 2008.
- [4] 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.
- [5] J. Batt. Nonlinear Compact Mappings and their Adjoint. *Math Ann*, 189:5–25, 1970.
- [6] K. Fujimoto, JMA. Scherpen, and WS. Gray. Hamiltonian Realization of Nonlinear Adjoint Operators. In *Proc IFAC Workshop in Lagrangian and Hamiltonian Methods for Nonlinear Control*, Princeton, USA, 2000.
- [7] GI. Marchuk. Construction of Adjoint Operators in Non-Linear Problems of Mathematical Physics. *Math Sbor*, 189(10):1505–1516, 1998.
- [8] T. Goldstein and S. Osher. The Split Bregman Method for L1-Regularized Problems. *SIAM J. Imaging Sci*, 2(2):323–343, 2009.
- [9] C. Prieto, PG. Batchelor, JV. Hajnal, M. Guarini, and P. Irarrazaval. Reconstruction of Undersampled Dynamic Images by Modeling the Motion of Object Elements. *Magn Reson Med*, 57:939–949, 2007.
- [10] J. Royuela-del-Val, L. Cordero-Grande, F. Simmross-Wattenberg, M. Martín-Fernández, and C. Alberola-López. Non-Rigid Groupwise Registration for Motion Estimation and Compensation in Compressed Sensing Reconstruction of Breath-Hold Cardiac Cine MRI. *Magn Reson Med*, 75(4):1525–1536, 2016.
- [11] 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.
- [12] P. Rodriguez. Total Variation Regularization Algorithms for Images Corrupted with Different Noise Models: A Review . *Journ Elec Comp Eng*, 2013(3):1–18, 2013.
- [13] J. Royuela-del-Val, L. Cordero-Grande, F. Simmross-Wattenberg, M. Martín-Fernández, and C. Alberola-López. Jacobian Weighted Temporal Total Variation for Motion Compensated Compressed Sensing Reconstruction of Dynamic MRI. *Magn Reson Med*, 2016.
- [14] R. Gateaux. Sur les Fonctionnelles Continues et les Fonctionnelles Analytiques. *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences, Paris*, 157:325–327, 1913.
- [15] SG. Lingala, E. DiBella, C. Ched'hotel, M. Nadar, and M. Jacob. Motion compensated reconstruction for myocardial perfusion MRI. *J Cardiovasc Magn Reson*, 14:(Suppl 1): M11, 2012.
- [16] L. Cordero-Grande, S. Merino-Caviedes, S. Aja-Fernández, and C. Alberola-López. Groupwise Elastic Registration by a New Sparsity-Promoting Metric: Application to the Alignment of Cardiac Magnetic Resonance Perfusion Images. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*, 35:2638–2650, 2013.
- [17] D. Rueckert, LI. Sonoda, C. Hayes, DLG. Hill, MO. Leach, and DJ. Hawkes. Nonrigid Registration using Free-Form Deformations: Application to Breast MR Images. *IEEE Trans Med Imag*, 18:712–721, 1999.
- [18] J. Nocedal and S. Wright. *Numerical Optimization*. Springer Verlag, New York, USA., 1999.
- [19] M. Zibulevsky and M. Elad. L1-L2 Optimization in Signal and Image Processing. *IEEE Signal Proc Mag*, 27(3):76–88, 2010.
- [20] J. Royuela-del-Val, M. Usman, L. Cordero-Grande, M. Martín-Ferntández, F. Simmross-Wattenberg, C. Prieto, and C. Alberola-López. Multiresolution Reconstruction of Real-Time MRI with Motion Compensated Compressed Sensing: Application to 2D Free-Breathing Cardiac MRI. In *Proc Congr Anual Soc Esp Ing Biom (CASEIB)*, Madrid, Spain, 2015.

Reproducibilidad y respuesta durante estrés pasivo de la técnica Arterial Spin Labeling en el miocardio

V. Aramendía-Vidaurreta¹, A. García-Osés¹, M. Vidorreta², G. Bastarrika¹, M. A. Fernández-Seara¹.

¹ Departamento de Radiología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona, España. varamendia@alumni.unav.es; {[agosos_bastarrika](mailto:agosos_bastarrika@unav.es), [mfseara](mailto:mfseara@unav.es)}@unav.es

² Siemens Healthineers, Madrid, España. {marta.vidorreta@siemens-healthineers.com}

Resumen

Arterial spin labeling (ASL) es una técnica que permite cuantificar la perfusión en resonancia magnética de una manera no invasiva y repetible. Se ha utilizado extensamente en el cerebro, pero su aplicación en el miocardio supone a día de hoy todavía un reto. El objetivo de este estudio es doble. En primer lugar, analizar la reproducibilidad de la técnica ASL en el miocardio. En segundo lugar, evaluar las diferencias de flujo miocárdico entre secuencias en reposo y estrés pasivo. Para ello, se ha calculado el coeficiente de variación entre sujetos ($wsCV$) y el coeficiente de correlación de Pearson (r). Se ha obtenido un $wsCV$ intra-sesión del 15% y un $wsCV$ inter-sesión del 35%. Asimismo, se han obtenido valores de r intra-sesión de 0.911 ($P < 0.001$) y valores de r inter-sesión de 0.539 ($P = 0.0872$). Además, se ha comprobado que la perfusión media ASL ha aumentado significativamente con el levantamiento pasivo de piernas en 0.22 ± 0.41 ml/g/min ($P = 0.037$ con un test de Student pareado de 1 cola).

1. Introducción

El flujo sanguíneo miocárdico (MBF) es un índice importante de enfermedad isquémica. Actualmente, en resonancia magnética se utiliza el análisis cualitativo de la cinética de primer paso de un agente de contraste paramagnético, basado en gadolinio y administrado por vía intravenosa, para medir el MBF. Esto limita su aplicabilidad, especialmente en pacientes con insuficiencia renal [1]. La mayor parte de estos estudios se componen de secuencias realizadas en reposo y bajo estrés farmacológico con el objetivo poder diferenciar entre artefactos de imagen y defectos en la perfusión.

Arterial spin labeling (ASL) ofrece una alternativa no invasiva y libre de contraste, ya que utiliza sangre magnetizada como marcador endógeno. Esta técnica se ha utilizado principalmente en estudios de perfusión cerebral, pero también existen estudios que han demostrado el uso de ASL para cuantificar flujo miocárdico [2]. Estos estudios han utilizado principalmente un módulo de inversión FAIR (flow-sensitive alternating inversion recovery) con el módulo de lectura bSSFP (balanced steady state free precession) tras un determinado tiempo de inversión (TI) para permitir que la sangre marcada se perfunda por el tejido.

En FAIR, se alternan inversiones globales y selectivas con el objetivo de adquirir dos imágenes (“marcada” o “label”) y “control) en las que la señal del tejido estático sea idéntica y cuya diferencia nos permita cuantificar la señal de perfusión. La ponderación en perfusión en la

imagen marcada se consigue al invertir la magnetización de los protones de agua en la sangre arterial. Después de un tiempo de espera, la sangre marcada llega a los capilares, donde se produce el intercambio de agua con los tejidos, generando la señal de perfusión. Utilizando un modelo matemático se puede convertir la señal ponderada en perfusión en flujo sanguíneo, cuantificado en unidades fisiológicas (mililitros de sangre por gramo de tejido por minuto).

Hasta el momento, no hay muchos estudios que hayan evaluado la reproducibilidad de la técnica ASL en el miocardio y estas medidas únicamente se han llevado a cabo en estudios con apnea con el objetivo de minimizar los efectos del movimiento respiratorio [3], [4]. Debido a que la técnica ASL está limitada por su relación señal a ruido (SNR), es necesario promediar varios pares de imágenes ASL, lo cual requiere la realización de múltiples apneas y por tanto, mayor probabilidad de que existan diferencias en las posiciones del miocardio.

Por tanto, el objetivo de este estudio es doble. En primer lugar, evaluar la reproducibilidad intra e inter-sesión de la técnica FAIR ASL bajo respiración libre. En segundo lugar, evaluar diferencias en la perfusión miocárdica entre secuencias de reposo y estrés pasivo.

2. Materiales y Métodos

Este trabajo es la continuación de un estudio anterior en el cual se adquirieron imágenes de resonancia magnética con la técnica ASL en reposo sobre un grupo de voluntarios sanos con el objetivo de definir un tiempo de repetición (TR) óptimo para dichas secuencias de perfusión miocárdica y donde se concluyó que el TR más adecuado era de aproximadamente 4 ciclos cardiacos[5].

A partir de los resultados anteriores, se ha realizado un segundo estudio de resonancia magnética al mismo grupo de 11 sujetos (edad media 26 ± 2 años; 2 mujeres, 9 hombres) con el objetivo de evaluar la reproducibilidad inter-sesión (entre las dos sesiones) e intra-sesión (dentro de la segunda sesión) y las diferencias de perfusión miocárdica entre reposo y estrés pasivo. Para todo ello, se ha utilizado un sistema de resonancia magnética de 3T (Siemens Skyra).

El protocolo del estudio ha consistido en la adquisición de unos localizadores y posteriormente una serie de secuencias ASL para medir la perfusión miocárdica. Los

localizadores se adquieren con el objetivo de seleccionar el plano de imagen óptimo sobre el cual se estudiará la perfusión. El corte seleccionado corresponde al plano eje corto del ventrículo izquierdo del corazón a nivel medio. En la *Figura 1*, podemos ver los localizadores de dos cámaras, cuatro cámaras y eje corto correspondientes a uno de los voluntarios.

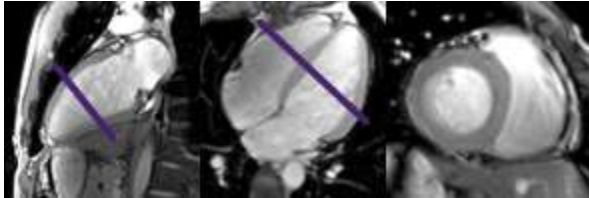


Figura 1. Localización del eje corto para el estudio de perfusión. Planos de 2 cámaras (izquierda), 4 cámaras (centro) y eje corto (izquierda).

En la *Figura 2*, vemos un esquema con el orden utilizado para las secuencias de perfusión ASL adquiridas en respiración libre.

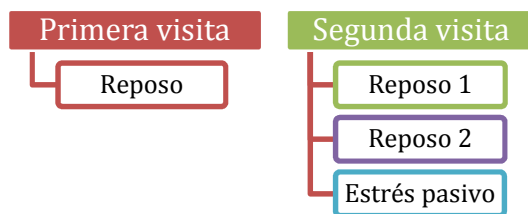


Figura 2. Orden de las secuencias ASL utilizadas en los estudios de resonancia. Los datos de la primera visita fueron adquiridos en un estudio anterior.

Cada secuencia ASL está compuesta por el módulo de inversión FAIR con trigger ECG y un TR efectivo de 4 ciclos cardiacos. Se adquirieron un total de 60 imágenes (30 pares ASL). Para adquirir todas las imágenes centradas en la fase diastólica se ha utilizado un tiempo de retardo (TD). Este parámetro es dependiente de la frecuencia cardíaca de cada sujeto.

Se han utilizado cuatro pulsos de presaturación previos al pulso de inversión. El módulo de lectura está precedido por un pulso de saturación de grasa. Los parámetros del módulo de lectura bSSFP son: tiempo de repetición (bSSFP-TR) = 2.39 ms; tiempo de eco (TE) = 1.43 ms; ángulo de inclinación = 70°; ancho de banda (BW) = 915 Hz/pixel; FOV lectura = 300 mm; tamaño de la matriz = 96 x 96; grosor de corte = 10 mm; aceleración = GRAPPA-2; duración del módulo de lectura = 167.30 ms.

Para la realización de la secuencia de estrés pasivo, los voluntarios han llevado a cabo un levantamiento pasivo de piernas, utilizando una caja de madera con 50° de inclinación, tal y como aparece en la *Figura 3*. El levantamiento de piernas empezó 5 minutos antes de lanzar la secuencia ASL correspondiente. La posición del voluntario no varía entre secuencias.



Figura 3. Caja de madera utilizada para el levantamiento pasivo de piernas durante el estudio de resonancia magnética.

También se ha adquirido una imagen baseline para poder cuantificar el MBF mediante un modelo matemático. Esta imagen es equivalente a la secuencia ASL, pero sin pulsos de presaturación y sin pulsos de inversión.

Posteriormente, las imágenes adquiridas han sido registradas con el objetivo de minimizar el movimiento respiratorio. Para ello, se ha utilizado el software ANTS (Advanced Normalization Tools Software). Se ha aplicado un registro no rígido con una transformación SyN (Symmetric diffeomorphic Normalization) y como métrica la correlación cruzada (CC). Debido a que existen grandes diferencias de intensidad entre las imágenes Label y Control a registrar (*Figura 4*), el registro se ha realizado en varios pasos. Primero, se ha registrado un par de referencia (label-control) escogido visualmente. Posteriormente, se han realizado dos registros independientes: todas las imágenes Label con su imagen de referencia Label y todas las imágenes Control con su imagen de referencia Control ya registrada. Finalmente, se ha realizado la substracción ASL (Control menos Label) y se ha descartado el primer par, ya que su magnetización no ha alcanzado el steady state.



Figura 4. Imágenes ASL adquiridas en el plano del eje corto del miocardio en un sujeto representativo. Imagen Label (izquierda) y Control (derecha).

Posteriormente, se ha dibujado manualmente una región de interés (ROI) en el miocardio sobre la imagen media ASL. Debido a la alta intensidad de señal en el interior de los ventrículos, es común la aparición de artefactos de volumen parcial que dan como resultado valores de MBF artificialmente altos. Para minimizar este efecto, se ha procedido a erosionar la máscara en el caso de voluntarios con miocardio fino.

Tras el registro, se ha procedido a la detección de valores atípicos (outliers). Primero, mediante una revisión visual,

para descartar las imágenes que no han sido correctamente registradas por el algoritmo y que presentan visualmente una gran deformación. A continuación, se ha llevado a cabo el cálculo de la media de intensidad de señal ASL en la ROI del miocardio para cada imagen de la serie temporal (Figura 5) y se han descartado todos los valores que exceden ± 2 desviaciones estándar (SD) de la media ASL, tal y como han hecho anteriormente otros autores [3]. Las imágenes ASL restantes tras la exclusión de outliers han sido promediadas para obtener una imagen ASL promedio por voluntario.

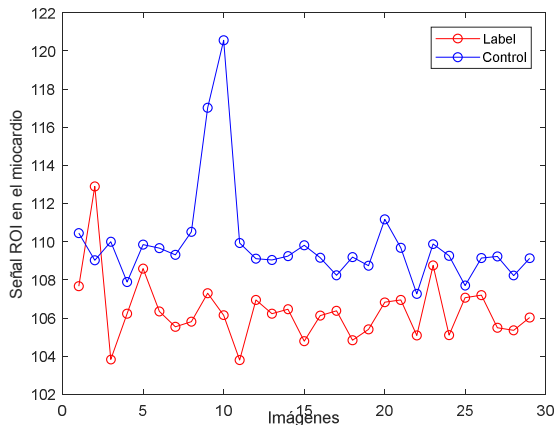


Figura 5. Intensidad de señal media en la ROI del miocardio para cada imagen de la serie (Label y Control) de reposo de un voluntario representativo. La media temporal de las imágenes Label es 106.39 ± 1.72 y la de las imágenes Control es 109.91 ± 2.64 .

De la imagen promedio ASL, se han estimado los mapas de perfusión cuantitativos utilizando la ecuación derivada del modelo cinético de Buxton [6]:

$$MBF = \frac{C-L}{2 \cdot B \cdot TI \cdot e^{-TI/T1}} \quad (1)$$

donde $C - L$ es la media de señal ASL en el miocardio; B es la media de la señal en el miocardio de la imagen baseline; TI es el tiempo de inversión (1 segundo) y $T1$ es el tiempo de relajación $T1$ de la sangre arterial en $3T$ (1664 ms). Los voxels que excedan los 10 ml/g/min son considerados no fisiológicos y por tanto excluidos del cómputo posterior [7][8][9].

El análisis de la reproducibilidad de las medidas cuantitativas del MBF en reposo se ha evaluado con el coeficiente de variabilidad entre sujeto (wsCV) en medidas intra-sesión (wsCV_{intra}) e inter-sesión (wsCV_{inter}) y un gráfico de dispersión. Las diferencias en perfusión miocárdica entre los estados de reposo y estrés se han evaluado mediante un test de Student pareado de 1 cola. Previamente, se ha comprobado la normalidad de los datos diferencia.

3. Resultados

En la Figura 6, vemos el resultado de dos mapas MBF en reposo y estrés pasivo de un voluntario representativo.

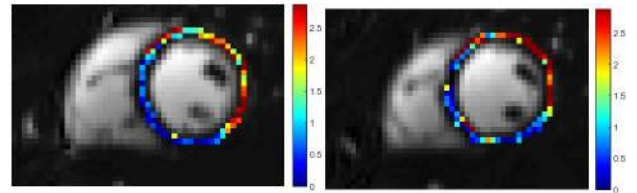


Figura 6. Mapas MBF en la ROI del miocardio en reposo (izquierda) y en estrés pasivo (derecha). El mapa MBF se representa en una escala de color en unidades de ml/g/min.

En la Figura 7, se presenta el diagrama de dispersión de los datos del MBF en reposo para las comparaciones intra e inter-sesión. También se presenta el coeficiente de correlación de Pearson (r) y su intervalo de confianza (IC95%). Como es posible obtener coeficientes de correlación altos en muestras pequeñas, se presenta también su significación estadística mediante un test de hipótesis basado en la distribución t de Student. La elipse indica la localización del 95% de los puntos en la población origen de la muestra. Se observa que el grado de asociación es mayor en la comparación MBF intra-sesión ($r=0.911$; $p<0.001$) frente a la comparación MBF inter-sesión ($r=0.539$; $p=0.0872$).

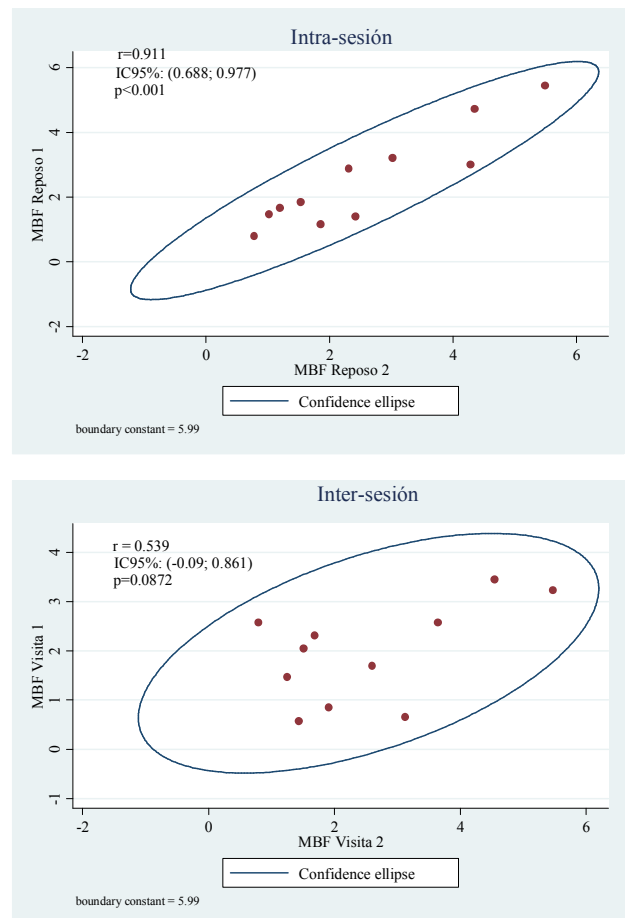


Figura 7. Diagrama de dispersión del MBF en reposo entre las dos visitas: intra-sesión (arriba) e inter-sesión (abajo).

En cuanto a las diferencias de flujo miocárdico, la media del MBF ha aumentado con el levantamiento pasivo de piernas en 0.22 ± 0.41 ml/ g/min, lo que corresponde a un incremento del 24.13 ± 45 % ($P=0.037$ con un test de Student pareado de 1 cola) en relación al reposo. Concretamente, se han detectado valores de MBF superiores en 8 sujetos, comparables en 1 e inferiores en 2, tal y como se muestra en *Tabla 1*. Como valores MBF de reposo se ha utilizado la media Reposo1 y Reposo2 dentro de la segunda visita

Voluntario	MBF reposo (ml/g/min)	MBF estrés (ml/g/min)
1	1.69	1.76
2	3.12	3.42
3	1.91	2.11
4	4.54	5.01
5	0.79	1.92
6	2.60	2.42
7	3.64	3.60
8	5.47	5.07
9	1.43	1.55
10	1.51	1.85
11	1.25	2.12
MEDIA	2.54 ± 1.49	2.81 ± 1.28

Tabla 1. MBF valores en reposo y estrés pasivo para cada voluntario durante la segunda visita. Los valores medios indican la media MBF \pm desviación estándar entre sujetos.

4. Discusión

En este estudio, se ha evaluado la reproducibilidad de la técnica FAIR ASL en el corazón en reposo y bajo respiración libre, con un posterior registro de imágenes. Asimismo, se han evaluado diferencias en la perfusión entre reposo y estrés pasivo.

Los valores MBF obtenidos están en concordancia con la parte alta del intervalo presentado en la literatura. Se ha obtenido un $wsCV_{intra}$ de 15% con valor similar a los presentados en estudios previos FAIR ASL, 21.8% [3] y 13% [4]. También, se ha obtenido un $wsCV_{inter}$ de 35%, ligeramente superior al 16% presentado por Keith et al. [4]. Como se esperaba, los valores de inter-sesión son peores que los de intra-sesión, debido a posibles cambios en el posicionamiento del sujeto, ajuste de bobinas y diferencias fisiológicas en la perfusión. Finalmente, los cambios medios del MBF durante el levantamiento pasivo de piernas son estadísticamente significativos y comparables a los que se han reportado en trabajos anteriores [10].

Como limitaciones de este estudio, cabe destacar que el número de voluntarios sanos reclutados es pequeño. Sin embargo, se considera que el análisis estadístico de la t-student es fiable ya que se ha comprobado previamente la normalidad de los datos.

5. Conclusiones

Este estudio demuestra la reproducibilidad de las medidas de ASL en reposo para la secuencia ASL con respiración libre en el miocardio y la posibilidad de cuantificar MBF en estrés pasivo.

Agradecimientos

Este trabajo ha contado con el apoyo económico de la fundación Asociación de Amigos de la Universidad de Navarra.

Referencias

- [1] M. Perazella, "Gadolinium-Contrast Toxicity in Patients with Kidney Disease: Nephrotoxicity and Nephrogenic Systemic Fibrosis," *Curr. Drug Saf.*, vol. 3, no. 1, pp. 67–75, 2008.
- [2] F. Kober, T. Jao, T. Troalen, and K. S. Nayak, "Myocardial arterial spin labeling," *J. Cardiovasc. Magn. Reson.*, vol. 18, no. 1, p. 22, 2016.
- [3] D. J. J. Wang, X. Bi, B. B. Avants, T. Meng, S. Zuehlsdorff, and J. A. Detre, "Estimation of perfusion and arterial transit time in myocardium using free-breathing myocardial arterial spin labeling with navigator-echo," *Magn. Reson. Med.*, vol. 64, no. 5, pp. 1289–1295, 2010.
- [4] G. A. Keith, C. T. Rodgers, M. A. Chappell, and M. D. Robson, "A Look-Locker Acquisition Scheme for Quantitative Myocardial Perfusion Imaging with FAIR Arterial Spin Labeling in Humans at 3 Tesla," *Magn. Reson. Med.*, vol. 00, pp. 1–9, 2016.
- [5] V. A. Vidaurreta, A. G. Osés, G. Bastarrিকা, and M. A. F. Seara, "Optimal Repetition Time For Myocardial Arterial Spin Labeling In Humans," in *ESMRMB2017*, 2017, vol. 0, p. 1.
- [6] R. B. Buxton, L. R. Frank, E. C. Wong, B. Siewert, S. Warach, and R. R. Edelman, "A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling," *Magn. Reson. Med.*, vol. 40, no. 3, pp. 383–396, 1998.
- [7] P. Chareonthaitawee et al., "Heterogeneity of resting and hyperemic myocardial blood flow in healthy humans," *Cardiovasc. Res.*, vol. 50, pp. 151–161, 2001.
- [8] B. P. Poncelet et al., "Measurement of human myocardial perfusion by double-gated flow alternating inversion recovery EPI," *Magn. Reson. Med.*, vol. 41, no. 3, pp. 510–519, 1999.
- [9] A. Jacquier, F. Kober, S. Bun, R. Giorgi, P. J. Cozzone, and M. Bernard, "Quantification of myocardial blood flow and flow reserve in rats using arterial spin labeling MRI: Comparison with a fluorescent microsphere technique," *NMR Biomed.*, vol. 24, no. 9, pp. 1047–1053, 2011.
- [10] Z. Zun, E. C. Wong, and K. S. Nayak, "Assessment of myocardial blood flow (MBF) in humans using arterial spin labeling (ASL): feasibility and noise analysis," *Magn. Reson. Med.*, vol. 62, no. 4, pp. 975–983, 2009.

Implications of magnetic resonance resolution in the generation of 3D patient-specific models after myocardial infarction

L. Gutiérrez Espinosa de los Monteros¹, D. G León², D. Filgueiras-Rama²

¹ Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain, lk.gutierrez@alumnos.upm.es

² Advanced Development in Arrhythmia Mechanisms and Therapy Laboratory, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, Spain. david.filgueiras@cnic.es

Abstract

Pathophysiological changes after myocardial infarction include myocardial tissue loss and replacement of the extracellular matrix with fibrosis, which generates an intermingling of viable myocytes and collagen that settles a heterogeneous substrate with potentially slow conduction areas leading to potential ventricular arrhythmias. Contrast enhanced cardiac magnetic resonance (ce-CMR), particularly late gadolinium enhancement (LGE-CMR) imaging enables us to differentiate between areas with moderate fibrosis and severe fibrosis, which results in scar characterization as intermedium signal intensity regions (heterogeneous scar) and highly elevated signal intensity regions (dense scar), respectively. LGE-CMR images have been used to generate patient-specific 3D models aiming to reproduce patient-specific substrates after myocardial infarction. Moreover, such models have been aiming to assess the risk of ventricular arrhythmia and sudden cardiac death, although the intrinsic limitations related to imaging resolution and signal intensity thresholds have not been well addressed yet.

The results show that 2D LGE-CMR sequences overestimate scar tissue compared with 3D sequences from the same patients. These data represent an important step towards optimization of diagnostic tools and better modeling-based strategies to design new diagnostic and therapeutic approaches after myocardial infarction.

1. Introduction

Myocardial infarction (MI) is referred to the irreversible death of the heart muscle (necrosis) [1]. MI is among the leading causes of morbidity and mortality around the world. It can lead to life-threatening ventricular arrhythmias (VAs), mainly related to reentrant activity within the scar area [2]

The ‘gold standard’ methodology to assess myocardial fibrosis is the histopathology of the myocardial tissue obtained from biopsies or necropsy samples. This methodology allows a macroscopic assessment using Masson’s trichrome staining and quantitative analysis of the collagen volume fraction in tissue samples [2]. Although this technique offers an absolute quantification of fibrosis in myocardial samples, this approach shows two main limitations: 1) It is an invasive procedure (i.e. biopsies) or requires a post-mortem analysis (i.e. necropsy studies), and 2) it would be difficult to achieve full assessment of the left and right ventricular myocardium.

However, during the last 10 years, cardiac Magnetic Resonance (CMR) has emerged as a non-invasive imaging method that provides a comprehensive assessment of myocardial anatomy and function [3]. The use of a contrast agent to enhance the region of interest has been a

key feature on these studies to achieve accurate analysis of myocardial tissue composition, especially myocardial fibrosis content.

Late gadolinium enhancement (LGE)-CMR imaging consists of the intravenous administration of a contrast agent (i.e. gadolinium) to the patient, ~10-15 minutes before the acquisition of contrast-enhanced sequences. Gadolinium aids to differentiate the fibrotic tissue from the healthy myocardium. The increase of gadolinium concentration within the fibrotic tissue causes T1 shortening, which is reflected as bright signal intensity in the CMR image using conventional inversion-recovery gradient echo sequences [4]. The discrimination between scarred/fibrotic myocardium and healthy myocardium relies on contrast concentration differences (bright and dark signal intensities, respectively), along with the selected settings of the inversion-recovery sequence parameters (see Figure 1).

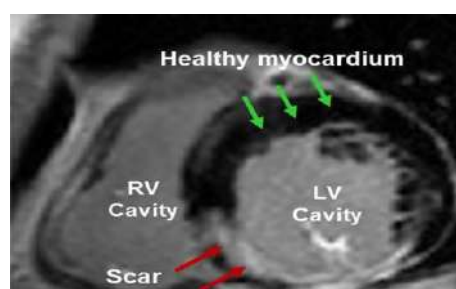


Figure 1. Representative LGE-CMR image. The green arrows indicate the healthy myocardium within dark voxels. Red arrows indicate the fibrotic tissue within areas with brighter signal intensity.

LGE-CMR imaging applications use 2D or 3D sequences. However, the use of 3D sequences is still restricted to a few studies, since requires larger acquisition times and substantial collaboration from the patient. Therefore, nowadays the vast majority of clinicians use 2D sequences to analyze cardiac abnormalities associated with MI.

Imaging acquisition may also show artifacts that can affect ventricular substrate characterization and modeling- derived implications. Some of these limitations are categorized in three main groups as follows:

- *Technical limitations:* Related to different acquisition techniques and derived from movement artifacts.
- *Imaging limitations:* This group includes the most common artifacts present on the image such as partial volume effect, aliasing and raw noise.

- *Anatomical limitations:* Cardiac fat tissue may affect imaging interpretation. Fat-derived signal intensity values are similar to the values obtained from fibrotic tissue.

Intrinsic limitations related to imaging resolution posed as a problem that has not been well addressed. Therefore, this study presents a comparative analysis to determine whether 3D or 2D LGE-CMR sequences may present equally relevant clinical tools for myocardial substrate characterization and modeling-based approaches after MI.

2. Materials and Methods

All clinical cases ($n = 6$) were adult patients (males) with previous history of chronic MI (Age distribution: 50, 67, 72, 72, 75, and 90). All patients underwent an LGE-CMR using 2D and 3D sequences to evaluate myocardial fibrosis.

2.1. LGE-CMR sequences

T1-weighted 3D phase sensitive inversion recovery (PSIR) gradient-echo sequences were performed to obtain 3D LGE-CMR images. These images were acquired ~10 minutes after the intravenous administration of gadolinium, in free-breathing mode with a prospective cardiac synchronization and a gating-tracking respiratory navigator.

T1-weighted 2D inversion recovery gradient-echo sequences (IR-TFE) were performed to obtain 2D LGE-CMR images. These images were acquired within a 40-minute window after the intravenous administration of gadolinium, during an expiration breath-hold mode (apnea) and short-axis orientation. Technical parameters of 2D and 3D LGE-CMR sequences are specified on Table 1.

	2D LGE sequence (n = 6)	3D LGE sequence (n = 6)
Technical Parameters		
Number of slices	15	160
Slice thickness (mm)	8	1.5
Voxel size (mm ³)	0.5938 x 0.5938 x 8	0.7083 x 0.7083 x 0.7
Resolution (pixels)	640 x 640 x 15	480 x 480 x 160
Acquisition time (min)	~ 0.3333	~ 10 – 15
Acquisition protocol	IR-TFE	PSIR

Table 1. Technical parameters of the acquisition protocol performed to obtain 2D and 3D LGE-CMR images.

2.2. Endocardial and epicardial borders segmentation

Both types of sequences (3D and 2D) were acquired in a whole body perspective (from neck to abdomen). First, a preliminary step was performed to define a region of interest (ROI) and avoid surrounding areas outside the heart. Such a step enabled us to simplify the cardiac segmentation process, since the surrounding organs and structures can be safely ignored. A coarse ROI was

achieved using a custom-made MatLab tool (The Mathworks, Inc, Natick). The tool uses intensity values criteria and then applies a morphological filter (i.e. cone-shaped kernel) to the stack of images.

After ROI retrieval we applied a semi-automatic method to delineate the contour of the epicardial border. The algorithm segmented the left ventricle (LV) and right ventricle (RV) based on a contrast enhancement technique and an active contour method. Despite this approach, manual segmentation was needed to achieve fine segmentations of the endocardial and epicardial contours. The entire segmentation process takes up to ~12h per case to achieve an accurate mask of the ventricular myocardium. Figure 2 shows a flowchart of the semi-automatic segmentation process.

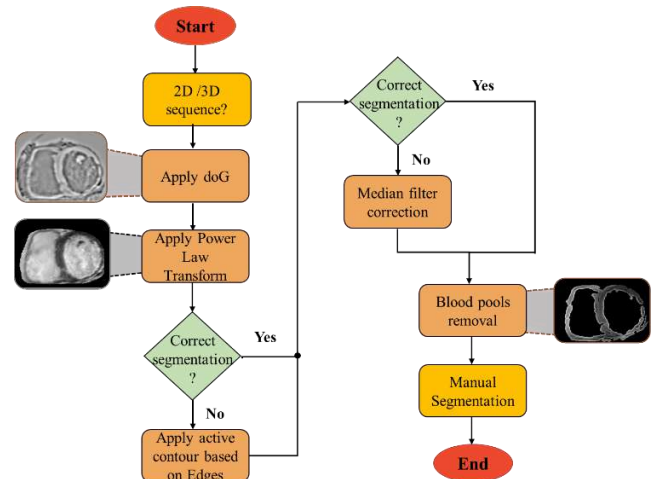


Figure 2. Flow diagram of the proposed semi-automatic process. Steps requiring user's interaction are specified with green diamonds.

2.3. Scar characterization

Scar characterization from LGE-CMR relies on signal intensity of the segmented imaging voxels. More specifically, scar tissue will show higher signal intensity than the normal and healthy myocardium.

A validated and modified strategy based on full width - half maximum method (FWHM) was applied to fully characterize the segmented myocardium [5]. First, the myocardial tissue was visually inspected and regional patches were extracted from regions that displayed the highest signal intensity. The scar patches were evaluated to find the optimal reference for establishing the maximum signal intensity, by means of median analysis of signal intensity values inside the matrix. Then, we applied the following thresholds for scar characterization, based on our previous data from high resolution sequences using sequential assessment of different signal intensity thresholds [6]-[7] (see Figure 3):

$$SI_1 = 0.45 * \text{maximum (SI)} \rightarrow \text{heterogeneous scar}$$

$$SI_2 = 0.67 * \text{maximum (SI)} \rightarrow \text{dense scar}$$

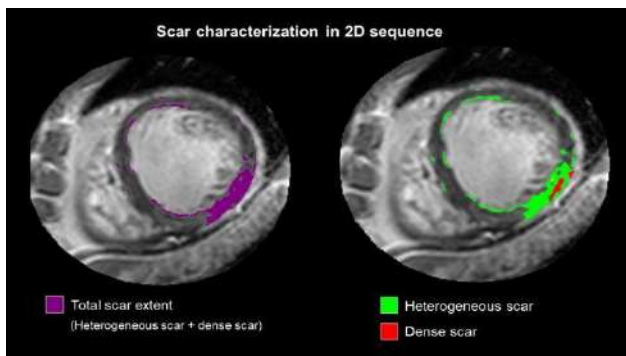


Figure 3. Representative mid-myocardium slice using a 2D LGE-CMR sequence. The left panel shows total scar extent; while the right panel differentiates between heterogeneous (SI_1) and dense scar (SI_2).

2.4. Scar quantification and statistical analysis

Data are expressed as median and interquartile range (IQR) for qualitative variables, and number and percentage for qualitative variables. Data normality was assessed with the Anderson-Darling test due to the higher sensitivity level (statistical significance; $p < 0.01$). Because of the small sample size, the data were treated as a non-gaussian sample.

The Mann-Whitney U test was used for group comparisons between 2D and 3D sequences. All data were analyzed in Graphpad Prism (GraphPad Software Inc., California) except for the normality test, which was evaluated using Matlab.

2.5. Visualization of patient-specific 3D models

Patient-specific masks created during the segmentation process were used to generate individual 3D models. Both 2D and 3D sequences were used to generate such 3D models (see Figure 4).

The masks were exported to itk-SNAP software (UPenn & NYU, USA) in DICOM (NEMA, Virginia) format to enable us the reconstruction of ventricular models from 3D binary masks. Then, the surface mesh was obtained from the segmentation panel and saved as .stl format. The open source software ParaView (ParaView, Albuquerque) was used to optimize visualization of 3D models.

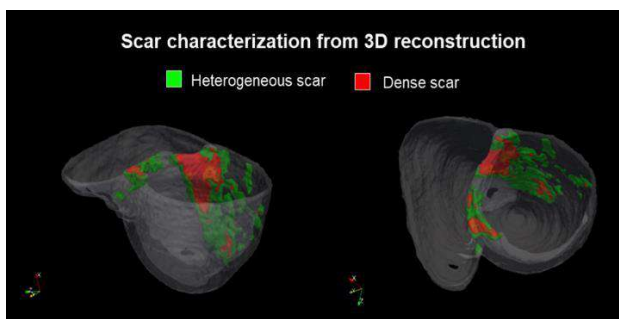


Figure 4. Retrieved 3D models including tissue characterization.

3. Results

Table 2 shows the comparisons of myocardial volumes after segmentation of healthy, dense and heterogeneous scar obtained from 2D and 3D LGE-CMR sequences.

	2D LGE sequence (n = 6)	3D LGE sequence (n = 6)
Tissue characterization volumes		
Healthy tissue volume (cm ³)	126.1 [97.21 - 197.80]	139 [118.40 - 182.20]
Total scar volume (cm ³)	22.54 [17.02 - 30.43]	9.05 [4.87 - 13.47]
Heterogeneous scar volume (cm ³)	16.21 [11.46 - 21.42]	6.67 [3.93 - 11.23]
Dense scar volume (cm ³)	6.07 [2.76 - 10.77]	1.68 [0.94 - 2.59]
Total volume (cm ³)	144.2 [117.8 - 201.7]	153.2 [121.3 - 191.5]

Table 2. Quantification of myocardial regions. Continuous data are expressed as median and interquartile ranges.

The results indicate that CMR-based ventricular volumes are preserved after segmentation, regardless the type of sequence. However, total scar quantification (considering heterogeneous and dense scar volumes) showed scar overestimation using 2D sequences. The median volume of total scar tissue obtained with 2D sequences was ~twofold the volume obtained with 3D sequences.

Heterogeneous and dense scar volumes showed the same behavior as total scar volumes. After applying the corresponding signal intensity threshold to segment the heterogeneous and dense scar (0.45 and 0.67, respectively), we could show that 2D LGE-CMR sequences also overestimated such volumes. More specifically, dense scar volumes in 2D sequences were almost fourfold the volumes obtained from 3D sequences. Such a difference was demonstrated to be statistically significant ($p = 0.0152$, Figure 5).

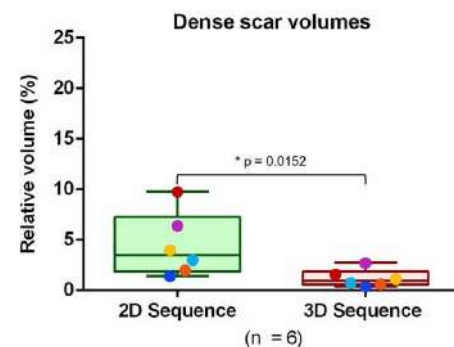


Figure 5. Comparison of dense scar volumes between 2D and 3D LGE-CMR sequences.

Heterogeneous scar volumes in 2D sequences were twofold the volumes obtained from 3D sequences (see Figure 6). The results show that 3D LGE-CMR sequences were more accurate to detect and quantify scar. The technical characteristics of 3D LGE-CMR sequences provide more information to delineate and confirm the heterogeneous scar tissue. Such values of heterogeneous scar may be especially relevant since some clinical outcomes have been related to heterogeneous scar regions. Therefore, using 2D or 3D sequences may substantially affect clinical outcomes described in previous series, which relied on 2D sequences.

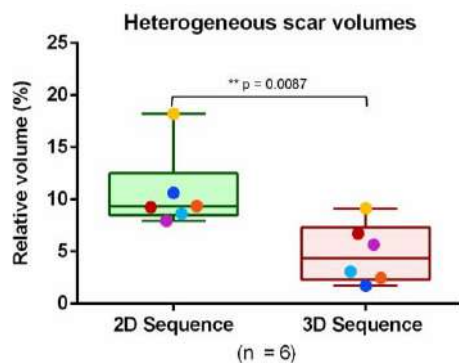


Figure 6. Comparison of heterogeneous scar volumes between 2D and 3D LGE-CMR sequences.

4. Discussion

We have used 2D and 3D LGE-CMR sequences to demonstrate and understand the implications of different CMR imaging resolutions on patient-specific 3D ventricular models after MI. The main contributions are: 1) Infarct-related scar characterization shows that 2D LGE-CMR sequences overestimate the scar volume in patient-specific 3D reconstructions after MI, compared with 3D LGE-CMR sequences, and 2) Two-dimensional sequences are sensitive to partial volume effects because of limited resolution on the longitudinal axis, which led to larger scar volumes compared with 3D sequences.

Dense and heterogeneous scar regions are categorized based on voxels' signal intensity values, which makes scar characterization highly-dependent on the selected threshold. In the absence of a gold standard, the scar thresholding was based on our previous data using 0.45 and 0.67 cutoff values, for heterogeneous and dense scar tissue, respectively [6]. Nevertheless, there is still controversy about the most accurate threshold for scar tissue characterization after established MI.

Histopathology cannot be totally substituted with CMR imaging. However, ex-vivo studies using animal models showed a high degree of correlation between enhanced regions using LGE-CMR images and fibrosis [8]. Heterogeneous scar is also the main determinant of 3D reentrant locations and potential reentrant sources [9]. Hence, overestimation of heterogeneous scar tissue using 2D sequences may have important consequences in ventricular arrhythmia stratification using computational models. Therefore, 3D LGE-CMR sequences provide a more accurate approach to quantify heterogeneous scar tissue.

Despite of the longer acquisition times observed on 3D sequences, more accurate patient-specific models may potentially have an impact in shorter interventional procedures and less complication rates. We can also conclude that 2D sequences will have significant limitations to generate accurate patient-specific 3D reconstructions. Therefore, 2D-derived computational hearts for arrhythmia risk stratification may not be the most appropriate approach to obtain clinically relevant computational models.

Limitations

Human clinical cases have a great impact on the relevance of this project. However, our series is rather small and it would be necessary to increase the sample size to provide higher statistical power to these results.

Imaging limitations have been confirmed throughout this work. Thus, limited spatial resolution of in-vivo 2D LGE-CMR sequences in the 'z' axis component is a limiting factor for the assessment of viable and non-viable myocardial tissue.

5. Conclusions

Human in-vivo 2D LGE-CMR sequences are limited to provide precise and detailed characterization of infarct-related ventricular substrates. In-vivo 3D LGE-CMR sequences show significantly lower scar tissue than 2D sequences, which reflects the relevance of imaging resolution in appropriate patient-specific substrate reconstruction.

Importantly, 2D LGE-CMR images are clinical accepted and widely used in clinical practice. However, the implications of poor identification of damaged tissue using 2D sequences may affect imaging-related clinical outcomes. Therefore, 3D LGE-CMR sequences should be established as the reference approach for modeling-based approaches aiming to arrhythmia risk stratification and/or accurate ventricular arrhythmia substrate characterization.

Acknowledgments

We thank the support of the Advanced Development in Arrhythmia Mechanisms and Therapy Laboratory at CNIC.

References

- [1] Maziarri A, Yang E. Myocardial Infarction. The Heart.org Medscape webpage (The Heart.org 2018). <https://emedicine.medscape.com> (Accessed 11th May 2018).
- [2] Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *European Heart Journal*, vol 37, 2016, pp 3232–3245.
- [3] Roberts WC, Siegel RJ, McManus BM. Idiopathic dilated cardiomyopathy: analysis of 152 necropsy patients. *American Journal of Cardiology*, vol 60, 1987, pp 1340-55.
- [4] Marcelo F, Di Carli F, Geva T, Davidoff R. The future of Cardiovascular Imaging. *Circulation*, vol 133, 2016, pp 2640-2661.
- [5] Pattanayak P, Bleumke DA. Tissue Characterization of the Myocardium: state of the art characterization by MR and CT imaging. *Radiology Clinics of North America*, vol 53, 2015, pp 413-423.
- [6] López-Yunta M, León DG, Alfonso-Almazán JM. Implications of bipolar voltage mapping and magnetic resonance imaging resolution in biventricular scar characterization after myocardial infarction. *Europace*, euy192, 2018.
- [7] Andreu D, Ortiz-Perez JT, Fernandez J. 3D delayed-enhanced magnetic resonance sequences improve conducting channel delineation prior to ventricular tachycardia ablation. *Europace*, vol 17, 2015, pp 938–945.
- [8] Pop M, Ghugre NR. Quantification of fibrosis in infarcted swine hearts by ex vivo late gadolinium-enhancement and diffusion-weighted MRI methods. *Phys. Med. Biol.* vol 58, 2013, pp 5009-5028.
- [9] Ringenber J, Deo M, Filgueiras-Rama D. Effects of Fibrosis Morphology on reentrant Ventricular Tachycardia Inducibility and Simulation Fidelity in Patient-Driven Methods. *Clinical Medicine Insights: Cardiology*, vol 8, 2014, pp 1-13.

Método para la corrección de radiación dispersa a través de un beam-stopper en radiografía plana

C. Martínez^{1,2}, N. Sakaltras^{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, nsakaltras, 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

La radiación dispersa en radiografía plana reduce el contraste de la imagen clínica afectando a su capacidad diagnóstica. Para compensar este efecto, en clínica, se usan rejillas colocadas cerca del detector que absorben los fotones dispersos. Sin embargo, el uso de estas rejillas incrementando entre tres y seis veces la dosis de radiación que recibe el paciente.

La mayoría de métodos propuestos para sustituir el uso de rejillas están centrados en tomografía axial computarizada, la información de la geometría completa del objeto permite una estimación del mapa de radiación dispersa usando simulaciones. Los pocos trabajos publicados para imagen plana proponen hacer esta estimación a partir de la convolución de la radiografía con kernels pre-calculados y el resultado no es el óptimo en estudios muy heterogéneos como el tórax.

En este trabajo se presenta un nuevo método para la corrección de radiación dispersa en radiografía plana a través de su estimación en una segunda adquisición parcial, colocando una placa de tungsteno agujereada próxima a la fuente (beam-stopper). La estimación del mapa de radiación dispersa se realiza a partir del muestreo las zonas de sombra de la placa, en las que no llega radiación primaria. La evaluación del método con simulación en un protocolo de tórax muestra una recuperación del contraste equivalente al de la radiografía con radiación primaria, incrementando solo un 20 % la dosis absorbida por el paciente.

1. Introducción

La radiación dispersa en rayos X causa una pérdida de contraste en la imagen de radiografía plana que puede reducir su capacidad diagnóstica. El método más extendido para compensar este efecto es el uso de rejillas que absorben una parte significativa de los fotones de radiación dispersa, dejando que solo alcance el detector la radiación primaria. Sin embargo, debido a que también absorben radiación primaria, es necesario incrementar la dosis de radiación recibida por el paciente para mantener la relación señal a ruido en el detector. Este incremento varía en función del paciente multiplicando entre tres y seis veces la radiación con respecto a una adquisición sin rejilla [1]. Además, esta rejilla tiene que estar orientada a la fuente para dejar pasar solo la radiación primaria, dificultando su uso en técnicas donde la posición de la fuente varía, como tomosíntesis [2].

La aparición de la radiografía digital ha permitido sustituir el uso de rejillas por métodos de reducción de

radiación dispersa basados en técnicas de post-proceso. En lugar de intentar filtrar la radiación dispersa de forma física, estas técnicas estiman la señal de radiación dispersa que luego se resta de la imagen adquirida. Los pocos trabajos publicados para imagen plana proponen hacer esta estimación a partir de la convolución con kernels pre-calculados que emborronan la imagen en función del espesor del material atravesado [3, 4]. Sin embargo, estos métodos pueden fallar en estudios muy heterogéneos como el tórax.

La mayoría de métodos propuestos están centrados en tomografía axial computarizada (TAC), donde la información de la geometría completa del objeto permite una estimación del mapa de radiación dispersa usando simulaciones basadas en Monte-Carlo [5]. Otros métodos en TAC se basan en la estimación de la señal de radiación dispersa a partir de una adquisición parcial, bloqueando parte de los fotones de la fuente con una placa agujereada, también conocida como *beam stopper* de un material altamente atenuante como el tungsteno. Esto permite crear zonas de “sombra” en las que la radiación primaria no alcanza el detector correspondiendo toda la radiación medida con radiación dispersa. En [6, 7] se realiza una segunda adquisición usando el *beam stopper* mientras que otros evitan una segunda adquisición a través de *beam stoppers* que se mueven [8] o técnicas de *compressed-sensing* [9]. Sin embargo, hasta donde sabemos, ningún método ha considerado la aplicación de *beam-stoppers* en radiografía plana, donde existe menos información sobre la geometría y la composición de los tejidos del paciente.

En este trabajo se presenta un nuevo método para la corrección de radiación dispersa en radiografía plana basado en la adquisición de una segunda imagen con un *beam-stopper* colocado entre la fuente y el paciente. La evaluación preliminar en simulación muestra una mejora del contraste similar a las imágenes correspondientes a una simulación sin radiación dispersa, incrementando solo un 20 % la dosis recibida por el paciente.

2. Método propuesto

El método propuesto está basado en la estimación del mapa de radiación dispersa a través de una adquisición parcial colocando el *beam-stopper* entre la fuente y el paciente. Esta estimación es luego restada a una segunda

adquisición con sin el *beam-stopper*. En la adquisición parcial, el haz de rayos atraviesa los agujeros, mientras que la zona de sombra del detector solo será alcanzada por los fotones de dispersados, como se muestra en la Figura 1.

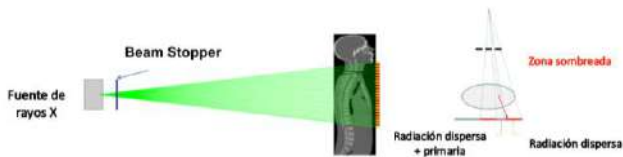


Figura 1. Esquema de colocación del *beam-stopper* y explicación de lo que ocurre en la zona de sombra.

El flujo de trabajo del método propuesto se muestra en la Figura 2.

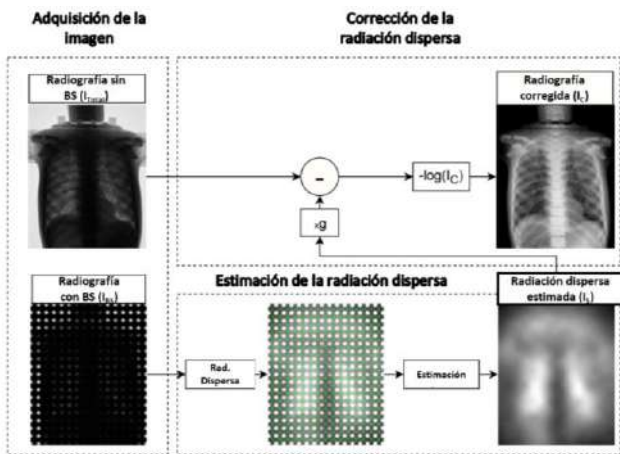


Figura 2. Flujo de trabajo del método propuesto.

La máscara de la zona de sombra se obtiene a partir de una adquisición con el *beam-stopper* previa (sin paciente) por medio de una umbralización.

Esta máscara se utiliza para seleccionar las muestras de la adquisición parcial que se corresponden con medidas del mapa de radiación dispersa. Para completar este mapa, se realiza una interpolación de tipo *robust lowess* [10].

La radiografía corregida, I_c , se obtiene eliminando la radiación dispersa, I_s , de la radiografía sin *beam-stopper* I_{TOTAL} :

$$I_c = I_0 - g \times I_s \quad (1)$$

donde g es un factor de ganancia para compensar la radiación bloqueada en la adquisición parcial por el *beam-stopper*. Finalmente, se realiza una operación logarítmica para obtener los valores de atenuación de acuerdo con la ley de Beer-Law.

3. Evaluación

En este trabajo se han realizado diferentes simulaciones usando una versión modificado del paquete de simulación MC-GPU [11]. Las simulaciones se han basado en un protocolo de adquisición de tórax y el sistema se ha configurado con una distancia fuente-detector de 180 cm. El tamaño del detector se fijó en 889x1080 píxeles con un tamaño de pixel de 0.4 mm. La fuente se modeló con un espectro de 100 kVp generado con la herramienta Spektr

[12]. Como muestra se ha usado un TAC de un maniquí antropomórfico (Kyoto Kagaku) con un tamaño de matriz de 349x230x938 vóxeles y un tamaño de voxel de 0.931x0.931x0.5 mm (Figura 3). El *beam-stopper* se ha situado a 20 cm de la fuente.



Figura 3. Maniquí utilizado para las simulaciones.

La Figura 4 muestra las imágenes separadas de radiación primaria y total y el mapa de radiación dispersa simulados.

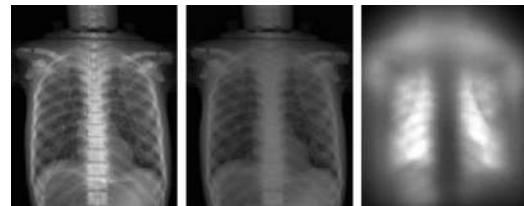


Figura 4. Imagen de radiación primaria (izquierda), radiación primaria + dispersa y solo radiación dispersa (derecha)

El tamaño y separación de los agujeros en el *beam-stopper* afecta al proceso de estimación de radiación dispersa. El número de agujeros tiene que ser suficiente para cubrir el campo de visión de la radiografía, lo cual depende del tamaño máximo del colimador. El diámetro de los agujeros influye en la relación señal a ruido de la zona de sombra, ya que agujeros demasiado pequeños limitarán la radiación que atraviesa el paciente, reduciendo a su vez la cantidad de radiación dispersa. Por otro lado, agujeros muy grandes reducen la zona de sombra para estimar el mapa de radiación dispersa. Además, un tamaño de agujero grande supone un incremento de la dosis de radiación entregada al paciente durante la adquisición parcial. Para estudiar el efecto del tamaño y la separación de los agujeros del *beam stopper* se realizaron cuatro pruebas variando el tamaño de los agujeros entre 1 y 2 mm y la separación de los mismos entre 2 y 4 mm. El número de agujeros en todos los casos se calculó de forma que se cubriera todo el campo de visión. La comparación de los mapas de radiación dispersa estimados con el mapa ideal (obtenido en simulación) se basó en el error cuadrático medio normalizado (ECMN).

Para evaluar cualitativamente el contraste se trazaron dos perfiles, uno en la columna vertebral y el otro atravesando los dos pulmones, tal y como se muestra en la Figura 5.

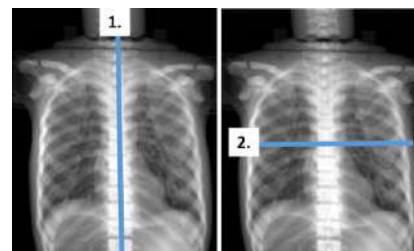


Figura 5. Perfiles trazadas para evaluar el contraste en la columna (1) y los pulmones (2).

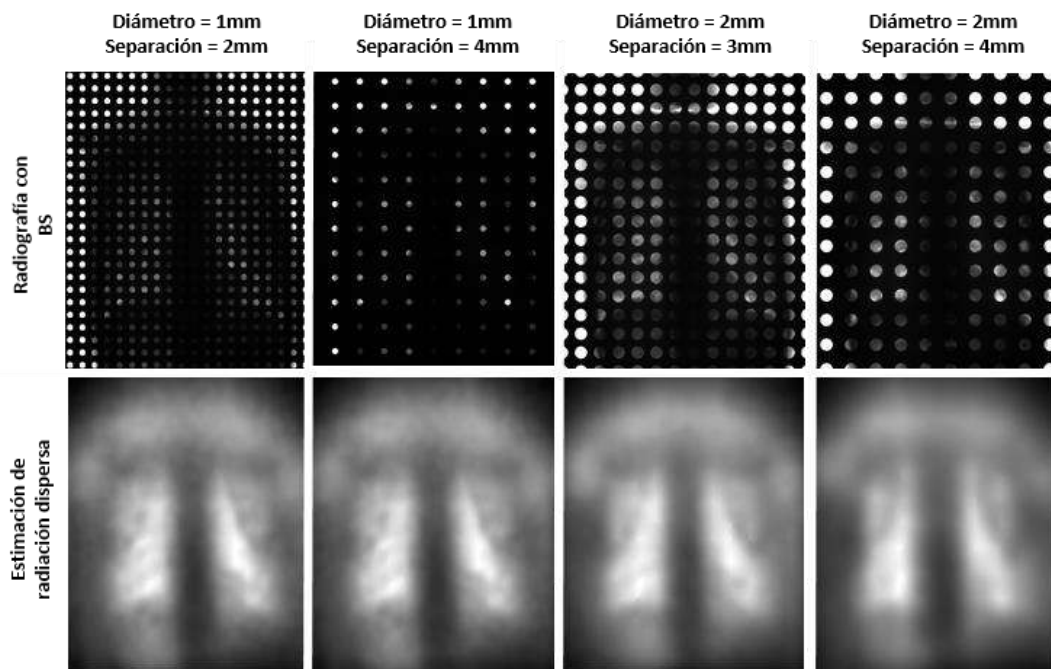


Figura 6. Estimaciones de radiación dispersa para distintos diseños de BS

4. Resultados

La Figura 6 muestra el mapa de radiación dispersa obtenido para cada uno de los modelos de *beam stopper* evaluado. El error cuadrático medio normalizado (ECMN) para los distintos modelos de *beam stopper* se recoge en la Tabla 1.

	D=1mm S=2mm	D=1mm S=4mm	D=2mm S=3mm	D=2mm S=4mm
ECMN	0.0933	0.0943	0.0980	0.1049

Tabla 1. Errores cuadráticos medios para diferentes *beam stopper*.

Basado en estos resultados, se optó por un *beam stopper* con un tamaño de agujeros de 1 mm con una separación de 2 mm. Para la geometría deseada, (distancia entre fuente y *beam stopper* de 20 cm, distancia entre fuente y detector de 180 cm), el diámetro de los agujeros en la imagen proyectada es de aproximadamente 9 mm y la separación de 18 mm. Con este diseño, el *beam stopper* bloquea aproximadamente el 85 % de la radiación incidente.

La Figura 7 muestra el resultado del método propuesto, donde se puede apreciar el aumento de contraste en la imagen corregida.



Figura 7. Radiografía original (izquierda), corregida (centro) y solo radiación primaria (derecha)

Esta mejora de contraste se puede observar mejor en los perfiles trazados sobre la imagen original, la corregida y la correspondiente a solo radiación primaria (Figura 8).

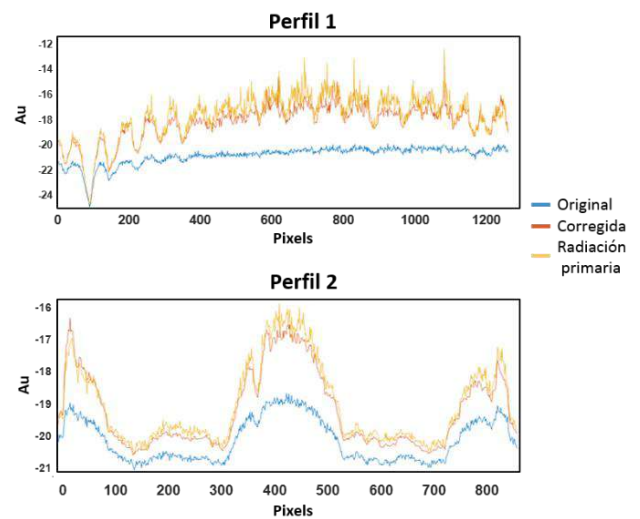


Figura 8. Perfiles trazados sobre la columna (arriba) y sobre los pulmones (abajo)

5. Conclusiones y trabajo futuro

Se ha propuesto un método que permite la corrección de radiación dispersa en un estudio de radiografía plana evitando el uso de rejillas. El método se basa en una adquisición adicional para la estimación del mapa de radiación dispersa. Esta adquisición adicional es una adquisición parcial, en la que se encuentra una placa agujereada de un material con alta atenuación a los rayos X entre la fuente y el paciente.

Se ha evaluado el método a través de simulaciones de un protocolo de tórax probando diferentes tipos de diseños

de *beam-stopper* para encontrar la estimación de radiación dispersa óptima.

Los resultados preliminares en las radiografías simuladas muestran un aumento del contraste con respecto a las imágenes con radiación dispersa. La adquisición adicional implica un incremento de la dosis de radiación recibida por el paciente de cinco veces menor que la necesaria con el uso de rejillas. Además, este método puede ser usado en los diferentes protocolos de radiografía plana como puede ser tomosíntesis donde el uso de rejillas queda descartado por la geometría. Como trabajo futuro se contempla la automatización del ajuste del parámetro de ganancia de forma automática, que actualmente se hace visualmente en la imagen. El siguiente paso será la evaluación en sistema real, construyendo un *beam-stopper* de un material de alta atenuación a los rayos X como el tungsteno.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de España de Economía y Competitividad (proyectos TEC2013-47270-R and RTC-2014-3028-1) y el Ministerio de Economía, Industria y competitividad (proyectos DPI2016-79075-R AEI/FEDER, UE - Agencia Estatal de Investigación and DTS17/00122 Instituto de Salud Carlos III - FIS), y cofinanciado ERDF (FEDER) Fondos de la Unión Europea, "A way of making Europe". El CNIC es financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad y la fundación PRO-CNIC y es un centro de excelencia Severo Ochoa (SEV-2015-0505).

Referencias

- [1] G. T. Barnes, "Contrast and scatter in x-ray imaging," *Radiographics*, vol. 11, pp. 307-323, 1991.
- [2] I. Sechopoulos, "A review of breast tomosynthesis. Part I. The image acquisition process," *Medical physics*, vol. 40, 2013.
- [3] J. Ducote and S. Molloy, "Scatter correction in digital mammography based on image deconvolution," *Physics in Medicine & Biology*, vol. 55, p. 1295, 2010.
- [4] C. Kotre, "Suppression of the low spatial frequency effects of scattered radiation in digital radiography," *Physics in Medicine & Biology*, vol. 61, p. 280, 2015.
- [5] A. Sisniega, M. Abella, E. Lage, M. Desco, and J. Vaquero, "Automatic Monte-Carlo Based Scatter Correction For X-ray cone-beam CT using general purpose graphic processing units (GP-GPU): A feasibility study," in *Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC), 2011 IEEE*, 2011, pp. 3705-3709.
- [6] Y.-W. Choi, J.-G. Choi, Y.-s. Kim, H.-S. Park, and H.-J. Kim, "Scatter characterization using a beam-stop-array algorithm for digital breast tomosynthesis," *Journal of the Korean Physical Society*, vol. 63, pp. 2239-2246, 2013.
- [7] K. Yang, G. Burkett, and J. M. Boone, "An object-specific and dose-sparing scatter correction approach for a dedicated cone-beam breast CT system using a parallel-hole collimator," in *Medical Imaging 2012: Physics of Medical Imaging*, 2012, p. 831303.
- [8] L. Ouyang, K. Song, and J. Wang, "A moving blocker system for cone-beam computed tomography scatter correction," *Medical physics*, vol. 40, 2013.
- [9] X. Dong, M. Petrongolo, T. Niu, and L. Zhu, "Low-dose and scatter-free cone-beam CT imaging using a stationary beam blocker in a single scan: phantom studies," *Computational and mathematical methods in medicine*, vol. 2013, 2013.
- [10] W. S. Cleveland, "Robust locally weighted regression and smoothing scatterplots," *Journal of the American statistical association*, vol. 74, pp. 829-836, 1979.
- [11] A. Sisniega, M. Abella, E. Lage, M. Desco, and J. J. Vaquero, "Automatic Monte-Carlo Based Scatter Correction for X-ray Cone-Beam CT using General Purpose Graphic Processing Units (GP-GPU): a Feasibility study," in *IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (2011 NSS-MIC)*, Valencia, 2011.
- [12] 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.

Imagen Biomédica II

Miércoles, 21 de noviembre

Segmentación de imágenes de Resonancia Magnética de la médula espinal cervical en pacientes de Esclerosis Múltiple

A. Bueno Gómez¹, I. Bosch¹, J. Carreres Polo², A. Alberich-Bayarri^{2,3}

¹ Instituto de Tecnologías y Aplicaciones Multimedia (iTEAM), Universidad Politécnica, Valencia, España, ambuego@iteam.upv.es

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

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

Resumen

La atrofia del sistema nervioso central y la aparición de lesiones tanto de carácter focal como difuso son signos indicativos y de gran relevancia en la Esclerosis Múltiple, relacionándose además con la discapacidad clínica. Aunque un análisis de la volumetría y los posibles cambios en las intensidades de señal de la médula serían útiles para la detección, diagnóstico y gradación de la enfermedad, la segmentación de imágenes de la médula a partir de imágenes de resonancia magnética es un proceso inviable en práctica clínica, por el elevado tiempo que requeriría la delimitación manual corte a corte.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de una metodología semi-automática de segmentación de imágenes de la médula en pacientes de Esclerosis Múltiple, lo que permitirá introducir nuevos biomarcadores de imagen en práctica clínica y mejorará el diagnóstico y seguimiento de los pacientes.

Un coeficiente DICE de 0.84 ± 0.06 fue obtenido como media de todos los casos estudiados, lo cual, si consideramos 0.8 como un buen rendimiento de segmentación, este umbral lo superamos en el 88.8% de los casos.

1. Introducción

La Esclerosis Múltiple, es una enfermedad autoinmune del sistema nervioso central, caracterizada por una fase inflamatoria inicial, que normalmente conduce a la desmielinización y pérdida axonal con el tiempo [1].

En la actualidad, la Resonancia Magnética (RM) es la modalidad de imagen más sensible en el diagnóstico y monitorización de la evolución de la Esclerosis Múltiple. Existen trabajos previos que evidencian la utilidad de la RM en la caracterización de la enfermedad en las alteraciones cerebrales [2]. Sin embargo, el estudio de la médula cervical mediante RM es uno de los retos en los últimos años. La atrofia que la médula espinal cervical y la aparición de lesiones desmielinizantes pueden objetivarse mediante la segmentación de las imágenes [3].

Existen estudios neuropatológicos [4-5] y de RM que han demostrado la implicación de la médula espinal en la Esclerosis Múltiple, ya que se piensa que la neurodegeneración de la médula espinal es el principal motivo patológico de la discapacidad locomotora irreversible.

En particular, las imágenes de RM de la médula espinal han aportado evidencias indirectas de degeneración axonal cuantificando la atrofia, la cual se identifica mediante la reducción del área transversal de la médula espinal, y

correlaciones entre la cuantía de ésta disminución y la discapacidad física. Además, las imágenes de resonancia magnética también muestran que existen zonas hipertensas, las cuales se relacionan con lesiones, principalmente localizadas a nivel cervical, en más del 90% de los pacientes diagnosticados de Esclerosis Múltiple [6].

La valoración de la atrofia y las lesiones en médula a partir de RM podría ser un método efectivo en el ámbito de las pruebas diagnósticas en esclerosis múltiple, convirtiendo al área transversal de la médula espinal en un biomarcador de imagen, con una efectividad conocida. Sin embargo, la existencia de distintas secuencias de adquisición de las imágenes, los diferentes contrastes conseguidos entre diferentes fabricantes y la variabilidad del campo de visión requerido en cada aplicación específica, hacen particularmente difícil la estandarización tanto de una metodología de adquisición como de análisis posterior [7].

Desde hace unos pocos años atrás, los investigadores comenzaron a proponer el desarrollo de métodos de segmentación automáticos [7-9], los cuales deberían disminuir la interacción del usuario a la vez que reducir también significativamente el tiempo de procesado de imagen. Sin embargo, los métodos de segmentación están limitados por factores relacionados con la sensibilidad al cambio entre éstas imágenes.

El propósito de este trabajo es el desarrollo de una metodología semiautomática de segmentación de médula incorporada a una herramienta con la que poder obtener la segmentación de la forma más automatizada posible y comparar los resultados con segmentaciones realizadas manualmente, aumentando la reproducibilidad de los resultados obtenidos entre distintos casos y/o pacientes.

2. Material y métodos

2.1. Participantes en el estudio

Tras la revisión y aprobación por parte del comité ético de investigación, se analizaron estudios anonimizados de RM de pacientes de Esclerosis Múltiple del Hospital Universitario y Politécnico de la Fe obtenidos a través de su sistema PACS (Archivos de Imágenes y Sistemas de Comunicación). Las principales características demográficas y técnicas de los pacientes las podemos ver recogidas en la *Tabla 1*.

2.2. Procesamiento de las imágenes

Para el análisis de las imágenes se utilizó la secuencia 3D T1 eco de gradiente transversal, con una matriz de adquisición de 256 filas x 256 columnas, un espesor de corte de 1.4 mm, un ángulo de magnetización de 12° y tiempos de eco (TE) entre 1.7-2.7ms y de repetición (TR) entre cada pulso de radiofrecuencia entre 5.6-8.2ms. Ésta secuencia se optimizó para maximizar la relación S/N y el contraste entre médula y líquido cefalorraquídeo, no haciendo necesaria la introducción de filtros de corrección de ruido.

El volumen en 3D de la zona cervical del paciente se realizó mediante la colocación ordenada de las imágenes según el campo *SliceLocation* de las cabeceras DICOM.

Las dimensiones del volumen resultante fueron, como primera y segunda, las de la imagen transversal en 2D y como tercera, el número de imágenes contenidas en la secuencia.

2.3. Algoritmo de segmentación

La segmentación se realizó en cada imagen transversal contenida en el tramo de médula elegida anteriormente en el plano sagital.

Para cada una de éstas imágenes transversales se aplicó el algoritmo de segmentación de crecimiento de regiones [10], para el cual, se determinó un punto semilla encargado de la expansión y adición de píxeles vecinos a la zona segmentada si éstos se encontraban dentro de un rango de valores de gris definido, como límite inferior, por el nivel medio de gris de la médula menos cierto umbral y como límite superior, el nivel medio más ese mismo umbral, según indica la *Ecuación 1*.

$$nivel_{pixel_segmentado} \begin{cases} \geq \overline{nivel_{médula}} - umbral \\ \leq \overline{nivel_{médula}} + umbral \end{cases}$$

Ecuación 1: Rango de segmentación.

Éste umbral es calculado para cada una de éstas adquisiciones mediante la detección de la diferencia de niveles de gris entre la zona de la imagen donde se encuentra la médula espinal y la zona que deja de ser interés al llegar al líquido cefalorraquídeo.

Éste valor umbral es particular de cada imagen transversal y es determinado analizando los niveles de gris de los píxeles adyacentes a la semilla, de manera que, si el valor de nivel de gris del pixel que está siendo analizado ($nivel_{analizado}$) es mayor al 75% de la mediana de las intensidades de los analizados anteriormente ($nivel_{gris_{médula}}$), se considera que pertenece a la médula espinal, si no, se interpreta como que se ha llegado

a una bajada de intensidad provocada por el líquido cefalorraquídeo, como indica la *Ecuación 2*.

Éste valor del 75% fue elegido para asegurarnos una diferencia del nivel de gris lo suficientemente notable como para garantizar que se ha llegado a la transición con el líquido cefalorraquídeo y no a bajadas de intensidad menores provocadas por la posible inhomogeneidad de la zona medular.

$$nivel_{analizado} \begin{cases} > 75\% nivel_{gris_{médula}} \rightarrow \in \text{médula} \\ \leq 75\% nivel_{gris_{médula}} \rightarrow \notin \text{médula} \end{cases}$$

Ecuación 2: Detección niveles de gris de la médula.

En la *Figura 1* vemos como a partir de la semilla (punto rojo), se determinan los niveles de gris donde se considera la llegada al líquido cefalorraquídeo (puntos verdes).

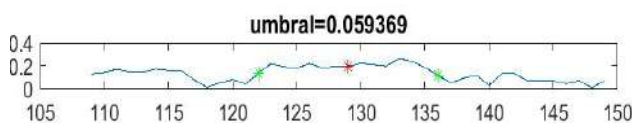


Figura 1: Variación niveles de gris médula-líquido cefalorraquídeo

La localización de los píxeles de la transición médula-líquido cefalorraquídeo se determina con el fin de que el algoritmo no evalúe toda la imagen y así limitar la zona de estudio a la zona determinada como médula.

Finalmente, se elige como valor umbral, el 40% de la diferencia entre el valor de gris máximo y mínimo contenidos en la zona considerada como médula, como bien indica la *Ecuación 3*. Éste porcentaje es elegido experimentalmente para asegurarnos que, cuando en el crecimiento de regiones se analice si un pixel pertenece al margen que éste umbral permite por encima y por debajo de los valores de gris de lo que es considerado médula, no se toleren valores por encima del máximo encontrado en la detección de la transición médula-líquido circundante (*Ecuación 2*), para evitar así la segmentación de zonas más allá de nuestro interés y asegurarnos estar siempre en el rango de valores de gris determinado en la detección de esa transición (*Figura 1*).

$$umbral = 40\%(nivel_{máx_{médula}} - nivel_{mín_{médula}})$$

Ecuación 3: Cálculo umbral.

En la *Figura 2* se observa el resultado sobre una imagen axial en la que ha sido determinada la transición entre la médula y el líquido circundante durante el cálculo del umbral.

El algoritmo segmentó la médula espinal en cada imagen transversal teniendo en cuenta tanto el valor umbral como

Paciente	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Género	F	F	M	F	M	F	F	M	F
Edad	34	40	38	48	36	35	13	43	38
Peso	60	60	75	47	77	60	50	79	65
Máquina de resonancia	Signa HDtx	Signa HDtx	Signa HDtx	Signa HDtx	Signa HDtx	Signa HDtx	Signa HDtx	Optima MR360	Signa HDtx
Imágenes en secuencia	146	106	112	106	212	116	106	316	118
Grosor slice	1	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1	1.4
Filas por imagen	512	256	256	256	256	256	256	256	256
Columnas por imagen	512	256	256	256	256	256	256	256	256

Tabla 1: Características demográficas y técnicas de los casos de pacientes

los píxeles considerados como médula detectados previamente, para dar lugar a un número de máscaras que conforman una matriz 3D con la estructura segmentada de interés, semejantes a la de la *Figura 3*, donde se muestra una de las muchas máscaras que forman parte de la segmentación total.



Figura 2: Auto detección médula-líquido cefalorraquídeo para cálculo del umbral

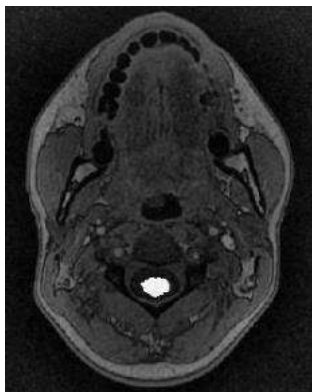


Figura 3: Máscara transversal componente de la segmentación sobre imagen original

2.4. Interacción manual del usuario

El algoritmo es integrado en una herramienta informática desarrollada en MatLab GUIDE (Mathworks Inc, Natick, MA, USA), en la cual, la interacción del usuario se basa en elegir un corte sagital centrado recorriendo el volumen 3D creado para, a partir de él, elegir la zona de la médula donde debe tener inicio la segmentación y la longitud de ésta.

Como procedimiento adicional también se da la opción de elegir la zona mediante, en este orden, punto inicial, longitud de segmentación y dos puntos más contenidos en esa longitud, como muestra la

Figura 4. Todo este procedimiento es intuitivo y secuencial, desde su comienzo, la herramienta interactúa contigo guiándote por los pasos a seguir.

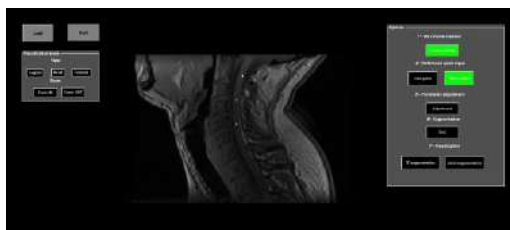


Figura 4: Entorno de interacción del usuario

3. Resultados y discusión

Para los 9 casos analizados, se calcula el coeficiente de similitud para segmentaciones de imagen conocido como Sørensen-Dice [11], entre las máscaras 2D ideales (ground-truth) obtenidas mediante el software de segmentación manual de imágenes médicas ITK-SNAP y las realizadas por nuestra herramienta en cada segmentación.

El coeficiente DICE oscila entre 0 y 1, indicando, respectivamente, que la segmentación producida por la herramienta difiere a la realizada manualmente o que es muy semejante. Es calculado según la *Ecuación 4*, donde A y B, aplicado a nuestro caso, es el número de píxeles en cada imagen a comparar y C es el número de píxeles compartidos en cada imagen.

$$QS = \frac{2C}{A + B}$$

Ecuación 4: Cálculo coeficiente DICE.

La técnica presenta en general buen rendimiento salvo en excepciones debidas bien a una incorrecta interacción humana, falta de calidad de las adquisiciones o incorrecto cálculo del nivel de umbral por falsa detección de bajos niveles de gris por líquido cefalorraquídeo.

3.1. Coeficientes DICE

Obtenemos todos los coeficientes DICE de las imágenes transversales que forman parte del tramo deseado de médula espinal a segmentar. Para ello, a parte de las máscaras resultantes de nuestra herramienta, son necesarias las máscaras ideales (ground-truth) con las que haremos la comparación. En la *Figura 5* vemos en verde los valores no coincidentes entre las máscaras automática y manual, sólo presentes en ésta última. En blanco los valores coincidentes.



Figura 5: a) segmentación manual, b) segmentación de la herramienta, c) superposición

En la *Tabla 2* aparecen recogidos los coeficientes DICE medio globales de las máscaras 3D resultantes en cada caso, así como la desviación típica de entre todas las máscaras componentes de la segmentación final. Vemos que, en algunos casos, existe una disparidad alta en las desviaciones típicas de cada caso. Esto es debido a limitaciones introducidas por la calidad de la segmentación o por la interacción del usuario, las cuales originan que la segmentación en alguna de las imágenes transversales de la médula sea de mala calidad y difiera mucho con respecto a las restantes que componen el tramo de médula espinal a segmentar.

Obtenemos un coeficiente DICE medio de todos los casos estudiados de 0.84 ± 0.06 , en desventaja frente a otras metodologías que se centran sólo a un nivel cervical [9],

con un coeficiente medio obtenido de 0.967, valor superior debido a la menor longitud de segmentación y por lo tanto complejidad. Siguiendo con la desviación típica, un valor bajo nos indica que la segmentación ha sido buena, sin máscaras abruptas que hagan perder la estabilidad de la segmentación.

Caso	DICE global máscara 3D	medio de la DICE	Desviación típica DICE
1	0.867		0.0258
2	0.831		0.028
3	0.816		0.040
4	0.824		0.060
5	0.836		0.050
6	0.877		0.044
7	0.861		0.036
8	0.840		0.128
9	0.788		0.138

Tabla 2. Coeficientes DICE por caso.

Que la desviación típica sea alta es señal de alguna problemática durante la segmentación por la obtención de máscaras muy dispares con respecto a la ideal (*Figura 6*), provocadas, por ejemplo, por la problemática de la cercanía a la médula de estructuras con niveles de gris semejantes.

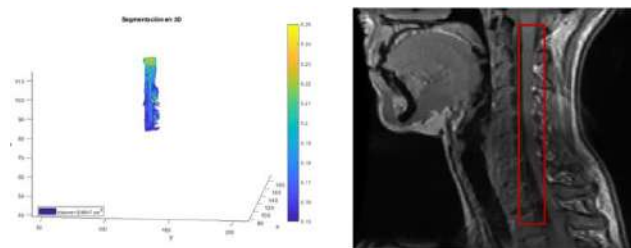


Figura 6: Desviación típica alta. Médula cercana al resto de estructuras.

Esto se puede observar también en los volúmenes 3D que da como resultado nuestra herramienta, representados en falso color, donde podemos observar cada segmentación realizada. En el volumen que aparece en la *Figura 6* podemos distinguir ciertos salientes originados por la problemática ya comentada de la proximidad de estructuras semejantes en términos de niveles de gris.

4. Conclusiones

Éste trabajo demuestra la viabilidad de la segmentación de médula espinal en pacientes de Esclerosis Múltiple mediante un método semiautomático. Esto tiene implicaciones directas en investigaciones neurológicas, permitiendo obtener información objetiva de relevancia en la progresión y tratamiento de los efectos de la enfermedad.

Ésta herramienta, mediante una mínima interacción humana, facilita y acelera el arduo proceso de segmentación, facilitándonos a la vez el volumen de médula segmentada y una representación en 3D en falso color para relacionar los distintos colores con las distintas intensidades presentes en la zona.

Así pues, contribuimos en la comprensión y estudio en la Esclerosis Múltiple, ya que se logra una optimización del tiempo restando esfuerzo al proceso de segmentación y sumando en la monitorización de la evolución de la

enfermedad y en el intento de definición de los mecanismos responsables de la acumulación de discapacidad irreversible, síntoma principal de dicha enfermedad.

A pesar de los resultados satisfactorios, el trabajo plantea retos que suponen la continuidad de la investigación, con la implementación de una nueva versión del algoritmo basado en redes neuronales convolucionales, así como el estudio con un mayor número de casos, lo que permitirá la automatización completa del método y la creación de clasificadores con el objetivo de identificar fenotipos de enfermedad.

Referencias

- [1] Matthews PM, De Stefano N, Narayanan S, Francis GS, Wolinsky JS, Antel JP. Putting magnetic resonance spectroscopy studies in context: axonal damage and disability in multiple sclerosis. *Semin Neurol.* 1998, 18: 327–336.
- [2] Magraner MJ, Bosca I, Simó-Castelló M, García-Martí G, Alberich-Bayarri A, Coret F, Alvarez-Cermeño JC, Martí-Bonmatí L, Villar LM, Casanova B. Brain atrophy and lesion load are related to CSF lipid-specific IgM oligoclonal bands in clinically isolated syndromes. *Neuroradiology.* 2012 Jan; 54, 1: 5-12.
- [3] Cordovez M, Jorge, Gálvez M, Marcelo, Rojas C, Gonzalo, Bravo C, Cristóbal, & Cerda E, Alejandro. Uso de volumetría y carga lesional en el seguimiento de pacientes con esclerosis múltiple: Experiencia local y revisión de la literatura. *Revista chilena de radiología,* 2013, 19, 4: 156-164.
- [4] Bjartmar, C. , Kidd, G. , Mörk, S. , Rudick, R. and Trapp, B. D. Neurological disability correlates with spinal cord axonal loss and reduced N-acetyl aspartate in chronic multiple sclerosis patients. *Ann Neurol.* 2000, 48: 893-901.
- [5] Trapp, B. D., Ransohoff, R. M., Fisher, E., & Rudick, R. A. Neurodegeneration in multiple sclerosis: relationship to neurological disability. *The Neuroscientist,* 1999, 5, 1: 48-57.
- [6] Valsasina, P., Rocca, M. A., Horsfield, M. A., Absinta, M., Messina, R., Caputo, D., ... & Filippi, M. Regional cervical cord atrophy and disability in multiple sclerosis: a voxel-based analysis. *Radiology,* 2013, 266, 3: 853-861.
- [7] Yiannakas MC, Mustafa AM, De Leener B, et al. Fully automated segmentation of the cervical cord from T1-weighted MRI using PropSeg: Application to multiple sclerosis. *NeuroImage: Clinical,* 2016; 10: 71-77.
- [8] Horsfield MA, Sala S, Neema M, et al .Rapid Semi-Automatic Segmentation of the Spinal Cord from Magnetic Resonance Images: Application in Multiple Sclerosis. *NeuroImage.* 2010; 50, 2: 446-455.
- [9] Ferran Prados, M. Jorge Cardoso, Marios C. Yiannakas, Luke R. Hoy, Elisa Tebaldi, Hugh Kearney, Martina D. Liechti, David H. Miller, Olga Ciccarelli, Claudia A. M. Gandini Wheeler-Kingshott & Sebastien Ourselin. Fully automated grey and white matter spinal cord segmentation. *Scientific Reports* 6, 2016, Article number: 36151
- [10] R. Adams and L. Bischof, "Seeded region growing," in *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence,* Jun 1994, vol. 16, no. 6: 641-647.
- [11] Página web de Mathworks, corporación especializada en desarrollo de software matemático. (Consulta: Julio 2018) <https://es.mathworks.com/help/images/ref/dice.html>

Clasificación de superpíxeles para la detección automática de lesiones rojizas en imágenes de fondo de ojo

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 la principal causa de pérdida de visión en los países industrializados. Los sistemas automáticos surgen como ayuda a los especialistas en el diagnóstico de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método de detección automática de lesiones rojizas (LR), entre las que destacan los microaneurismas y las hemorragias, que son los primeros signos de la RD. En primer lugar, se partió de un preprocesado para normalizar las imágenes de entrada. En segundo lugar, se dividió la imagen en superpíxeles con la técnica simple linear iterative clustering (SLIC). A continuación, se seleccionaron y agruparon los superpíxeles más oscuros de la imagen. Por último, se clasificaron los superpíxeles utilizando una red neuronal perceptrón multicapa (MLP). La base de datos (BD) empleada contenía 416 retinografías, de las cuales 208 presentaban algún tipo de LR. La BD se dividió aleatoriamente, a partes iguales, en un conjunto de entrenamiento y otro de test. Considerando un criterio basado en píxel, se obtuvo una sensibilidad del 80.4% y un valor predictivo positivo del 77.6%. Con un criterio basado en imagen, se alcanzó un 84.1% de precisión, un 86.5% de sensibilidad y un 81.7% de especificidad.

1. Introducción

La retinopatía diabética (RD) es una enfermedad derivada de la diabetes mellitus que daña progresivamente la retina causando pérdida de visión [1,2]. Su detección es importante en las primeras etapas, pero el tiempo que supone a los especialistas el análisis manual de las imágenes de fondo de ojo dificulta el cribado de la enfermedad sobre una población diabética que está en continuo aumento. Por ello, surge la necesidad de desarrollar sistemas automáticos que ayudan a reducir su carga de trabajo y los costes asociados [1]. Durante la primera fase de la RD, aparecen distintas lesiones sobre la retina. Este estudio se ha centrado en la detección de lesiones rojizas (LR), entre las que destacan los microaneurismas (MA) y las hemorragias (HE), que son los primeros signos de la enfermedad [1].

En la literatura se han propuesto numerosos métodos automáticos para la detección de LR en retinografías. Tradicionalmente, estos algoritmos parten de la segmentación de las principales estructuras anatómicas del ojo, en especial de los vasos sanguíneos. A continuación, suelen aplicarse filtros y operaciones morfológicas y, en muchos casos, se clasifican las regiones candidatas de manera individual [1]. Pueden encontrarse muchos trabajos centrados únicamente en la detección de MA, que se basan principalmente en morfología matemática, crecimiento de

regiones, transformada *wavelet* o técnicas híbridas [2]. Los trabajos centrados en la detección de HE se basan esencialmente en morfología matemática y clasificación de píxeles [2]. Sin embargo, muchos autores tratan de detectar al mismo tiempo tanto MA como HE, ya que suelen ser complicadas de diferenciar entre sí a nivel clínico [1]. En este contexto, los estudios más recientes utilizan técnicas de *flooding* [3], *deep learning* [4] y superpíxeles [5]. Un superpíxel es la agrupación de píxeles en una región atómica perceptualmente significativa con color y textura similares. En oposición al píxel, representa entidades naturales de la imagen. Además, es más acorde a la percepción visual humana, contiene menos redundancia y reduce la complejidad de las tareas de procesamiento de imagen [5]. Entre los algoritmos existentes para la generación de superpíxeles, el método *simple linear iterative clustering* (SLIC), basado en *k-means clustering*, presenta importantes ventajas y se ha utilizado con éxito en distintas aplicaciones biomédicas [6].

En este trabajo se propone un nuevo método de detección de LR basado en la clasificación de superpíxeles. Como contribución, evita las fases de segmentación de las principales estructuras anatómicas e incluye una reducción y combinación de los superpíxeles segmentados. Además, se presenta un novedoso algoritmo de detección multiescala de los píxeles oscuros de la imagen. Se partió de una etapa de preprocesado para corregir la iluminación, reducir el ruido, mejorar el contraste y normalizar el color de la imagen. A continuación, se segmentó la imagen en superpíxeles con el algoritmo SLIC [6] y se redujo el número de candidatos. Posteriormente, se combinaron aquellos superpíxeles contiguos con color similar. Por último, se configuró una red neuronal artificial (RNA) perceptrón multicapa (MLP) para clasificar las LR definitivas.

2. Base de datos de retinografías

La base de datos (BD) utilizada en el estudio estaba compuesta por 416 imágenes de fondo de ojo proporcionadas por el Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid. Fueron capturadas con el retinógrafo no midriático automático Topcon TRC-NW400, con un campo de visión (FOV) de 45° y tenían una resolución de 1956×1934 píxeles en formato JPEG de 24 bits. La BD contenía 208 imágenes sin LR y 208 imágenes con LR. Se dividió de forma aleatoria en un conjunto de entrenamiento (208 imágenes, 104 sin

LR y 104 con LR) y un conjunto de test (208 imágenes, 104 sin LR y 104 con LR). Un oftalmólogo marcó manualmente las LR presentes en todas las imágenes.

3. Métodos

3.1. Preprocesado

El objetivo de esta etapa fue normalizar las imágenes y realzar las estructuras, en especial las LR. Para ello, partiendo de la imagen original, I_{orig} (Figura 1(a)):

- Se eliminaron los artefactos brillantes que presentan algunas imágenes a lo largo del borde del FOV [7].
- Se extendió el fondo retiniano por fuera de la FOV para evitar efectos de borde [2].
- Se ecualizó la iluminación de forma similar a [3] y se normalizó el color medio en cada canal RGB de la imagen, obteniéndose la imagen uniforme I_{ei} :

$$I_{ei} = I_{orig} + \mu - I_{orig} * h_M, \quad (1)$$

donde h_M es un filtro de media de tamaño del diámetro del disco óptico y μ la intensidad media de las imágenes del conjunto de entrenamiento.

- Se eliminó el ruido aplicando un filtro de media adicional, de tamaño pequeño y elegido empíricamente, para obtener la imagen I_{er} [3].
- Partiendo de [3], se mejoró el contraste de la imagen como:

$$I_{prep} = I_{er} + (1 - I_{std}) \times (I_{er} * (1 - h_{M2})) \quad (2)$$

siendo h_{M2} un filtro de media de tamaño elegido de forma empírica y I_{std} la desviación típica local de I_{er} . La imagen I_{prep} puede observarse en la Figura 1(b).

3.2. Segmentación de candidatos

De la imagen preprocesada I_{prep} , se extrajeron, en primer lugar, los brillos de la imagen, I_{bri} . Para ello, se aplicó *Alternating Sequential Filtering* (ASF) [7] sobre I_{prep} para eliminar de forma aproximada todos los píxeles oscuros de la imagen (vasos sanguíneos y LR principalmente). Como resultado, se obtuvo I_{asf} . Posteriormente, se obtuvo I_{bri} aplicando a cada canal de color la siguiente operación multiescala, tomando I_{asf} como entrada (I_{in}):

$$I_{out} = \max_s \left(\alpha(s) * (I_{in} - I_{bg}(s)) \right), \quad (3)$$

con $s = \frac{r_{pap}}{4}, \frac{r_{pap}}{2}, r_{pap}, 2r_{pap}$ y $4r_{pap}$, siendo r_{pap} el radio de la papila, estimado como la décima parte del radio de la FOV



Figura 1. (a) I_{orig} , (b) I_{prep} .

[3] y $I_{bg}(s)$ el fondo de I_{in} estimado con un filtro de media de tamaño s . El parámetro $\alpha(s)$ se calculó como:

$$\alpha(s) = 1 - \left(0.32 * \frac{s}{r_{pap}} \right) \quad (4)$$

A continuación, se calculó de manera similar la imagen I_{osc} , que representa en nivel de oscuridad de los píxeles con respecto al fondo de la retina (Figura 2(a)). Para ello, se aplicó (3) tomando como entrada (I_{in}) la imagen complemento de la diferencia $I_{prep} - I_{bri}$. Esta diferencia evita que los bordes de los brillos sean considerados como regiones oscuras. Obtener la imagen I_{osc} considerando los tres canales de color evita perder la información que aportan conjuntamente, realizándose la diferencia de color de los píxeles oscuros con respecto al fondo.

El siguiente paso consistió en agrupar los píxeles de I_{osc} en superpíxeles que separasen los distintos elementos de la imagen por sus bordes. Para ello, se utilizó el algoritmo SLIC [6], que toma dos parámetros de entrada: el número aproximado de superpíxeles en que se dividirá la imagen (k) y la compacticidad (m), que representa la capacidad de los superpíxeles para ajustarse a los bordes adquiriendo formas más o menos irregulares. El parámetro k elegido debe ser tal que permita aislar las LR más pequeñas. Por tanto, siendo P el número total de píxeles de la imagen y considerando q el número de píxeles que ocupan las LR de menor tamaño, entonces $k = \frac{P}{q}$ [5]. El parámetro m , por su parte, tomará un valor pequeño para que los superpíxeles se ajusten robustamente a los bordes de la imagen [6]. El producto de esta operación es un mapa, L , de aproximadamente k etiquetas que identifican los superpíxeles que componen la imagen.

Para reducir candidatos, se eliminaron aquellos superpíxeles de L que no fueran oscuros, obteniéndose L_{red} . Para ello, se calculó la media de intensidad de los píxeles de cada superpíxel sobre el canal verde de la

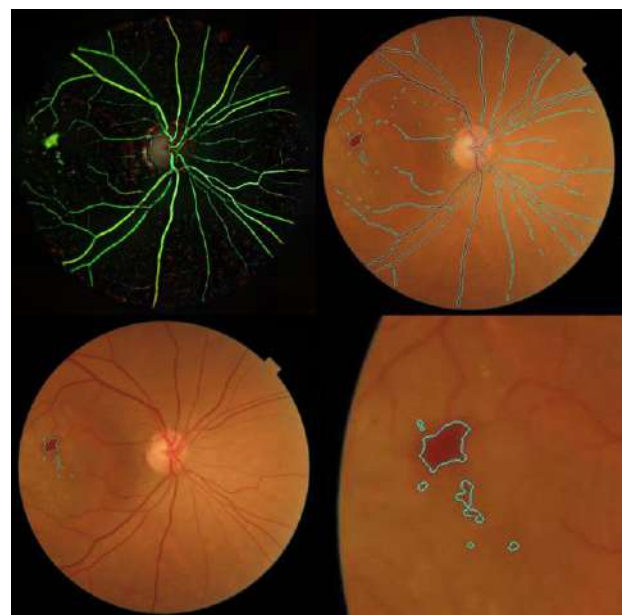


Figura 2. (a) I_{osc} , (b) L_{def} , (c) I_{tr} , (d) Zoom de I_{tr} .

imagen I_{osc} y se eliminaron aquellos que no superaran un umbral=0.3.

Por último, en un proceso iterativo, se combinaron aquellos superpíxeles contiguos que tuvieran un color muy similar, obteniéndose L_{def} . Para calcular la similitud de color entre dos superpíxeles se consideró la distancia euclídea de la media de los píxeles de cada superpíxel sobre la imagen I_{osc} en el espacio de color CIELAB (deltaE) [8].

3.3. Clasificación

Una vez obtenidos los superpíxeles candidatos a ser LR, se utilizó una red MLP para diferenciar aquellos que correspondían a una verdadera lesión de los que no. Este tipo de RNA se ha utilizado en estudios previos para la detección automática de LR [9]. Las características extraídas de cada superpíxel pretendían representar la variabilidad existente entre LR, diferenciándolas de las regiones correspondientes a segmentos de vasos sanguíneos y otras regiones oscuras de la imagen. Así, se extrajeron 39 características: (1) área, (2) compacticidad, (3) intensidad media de los bordes en la periferia de la región (con operador Prewitt), (4-6) homogeneidad, calculada como la entropía de Shannon, para cada canal RGB, (7) circularidad, (8) excentricidad, (9) solidez, (10-11) longitud de los ejes de la elipse con los mismos momentos centrales de orden 2 normalizados, (12-20) media, mediana y desviación típica de intensidad sobre I_{osc} para cada canal RGB dentro de la región, (21-29) media, mediana y desviación típica de intensidad sobre I_{prep} para cada canal RGB dentro de la región, (30-38) media, mediana y desviación típica de intensidad sobre I_{prep} para cada canal RGB fuera de la región y (39) media de intensidad sobre la respuesta de aplicar operadores de línea sobre el canal verde de I_{prep} [10].

A continuación, se utilizó la técnica *Fast Correlation Based Filter* (FCBF) [11] para seleccionar el subconjunto de características más adecuado para resolver el problema en particular [12].

Finalmente, se eligió una RNA MLP para obtener el resultado final. La red tenía 3 capas, con tantas neuronas en la capa de entrada como características seleccionadas [8]. En el entrenamiento de la red se optimizaron tanto el parámetro de regularización, ν , como 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]. Con la RNA entrenada, se clasificaron los superpíxeles del conjunto de test y se obtuvieron las regiones definitivas correspondientes a LR (I_{lr}), como se puede observar en el ejemplo de la Figura 2(c) y (d).

4. Resultados

4.1. Selección de características

Sobre el conjunto de entrenamiento se extrajeron un total de 42713 superpíxeles, de los cuales solamente 4622 se correspondían con LR. Para balancear las dos clases consideradas durante el entrenamiento, se eligieron también 4622 superpíxeles de las imágenes de

entrenamiento que no se correspondían con LR. Aplicando el algoritmo FCBF, se seleccionaron 16 características: 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 28, 30, 31, 37 y 39.

4.2. Optimización de parámetros del clasificador

Para optimizar los valores de ν y n_{oc} , se variaron éstos en los rangos: $\nu=[0-50]$ y $n_{oc}=[1-500]$ [12]. Se aplicó validación cruzada de 10 iteraciones sobre los superpíxeles candidatos extraídos del conjunto de entrenamiento. Los valores para los que se obtuvo la mayor precisión media sobre el conjunto de validación fueron $\nu=5$ y $n_{oc}=22$.

4.3. Resultados sobre el conjunto de test

Al clasificar los superpíxeles de las imágenes del grupo de test con el MLP entrenado, se obtuvieron las regiones detectadas definitivamente como LR. Estos resultados se compararon con las anotaciones del oftalmólogo para evaluar el método según dos criterios distintos. En primer lugar, según el criterio orientado a píxel, se consideraron como detecciones correctas todos los píxeles pertenecientes a una lesión correctamente detectada. Se calcularon el valor predictivo positivo (VPP_p) y la sensibilidad (SE_p) de los píxeles detectados [8]. En segundo lugar y según el criterio orientado a imagen, se consideró que una imagen correspondía a una retina patológica si en ella se detectaron como lesión al menos 30 píxeles. [8]. En caso contrario, la imagen se consideró como patológica. Así, se calcularon la precisión (PR_i), sensibilidad (SE_i) y especificidad (ES_i) según este criterio. Los resultados sobre el conjunto de test se recogen en la Tabla 1.

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se ha propuesto un método para la detección de LR en imágenes de fondo de ojo basado en la clasificación de superpíxeles. Hasta donde tenemos conocimiento, el algoritmo SLIC sólo ha sido utilizado en un trabajo previo para la detección de LR [5]. Como contribución, el método aquí propuesto evita las fases de detección de las principales estructuras anatómicas de la retina (como los vasos sanguíneos y la fovea). De este modo, es en la etapa de clasificación donde se elimina cualquier región no correspondiente a una LR. Además, el método incluye un paso previo a la clasificación para reducir el número de candidatos de manera rápida y combinar los superpíxeles que pertenezcan a un mismo objeto. Otra contribución novedosa del estudio es el algoritmo de detección multiescala de los píxeles oscuros de la imagen sobre los tres canales de color así como el hecho de aplicar SLIC sobre I_{osc} y no sobre la imagen original o preprocesada. Por último, el preprocesado propuesto combina ideas importantes de otros estudios que podrían ser útiles para cualquier estudio futuro de análisis de retinografías: eliminar los brillos periféricos, extender

Criterio basado en píxel		Criterio basado en imagen		
SE_p	VPP_p	SE_i	ES_i	PR_i
80.4%	77.6%	86.5%	81.7%	84.1%

Tabla 1. Resultados sobre el conjunto de test.

el fondo retiniano y normalizar el color medio entre imágenes, además de la mejora de contraste e iluminación y la reducción de ruido.

El método se evaluó sobre un conjunto de test de 208 retinografías, de las cuales 104 presentaban alguna LR. Se estudiaron 39 características representativas de las mismas y se aplicó la técnica FCBF para seleccionar aquellas más relevantes. Los resultados obtenidos se midieron con dos criterios diferentes. Con el criterio orientado a píxel se alcanzó una SE_p del 80.4% y un VPP_p del 77.6%. Con el criterio orientado a imagen se alcanzó una SE_i del 86.5%, una ES_i del 81.7% y una PR_i del 84.1%. Estos resultados son similares a los de otros estudios para la detección de LR según el criterio orientado a imagen, como puede verse en la Tabla 2. No obstante, las diferencias entre las BBDD utilizadas complican las comparaciones de los resultados.

El método propuesto también tiene ciertas limitaciones que es necesario mencionar. En primer lugar, el algoritmo SLIC no siempre consigue aislar debidamente los MA o LR de pequeño tamaño. El tamaño de los superpíxeles es un parámetro de compromiso. Cuando este tamaño es pequeño (k grande), los superpíxeles se adaptan mejor a las LR pequeñas. Sin embargo, también los superpíxeles se aproximan más al concepto de píxel individual, llegando a perder la representación de las entidades de la imagen [6]. En segundo lugar, pese a la combinación de superpíxeles contiguos de color similar, muchas estructuras (algunos vasos, por ejemplo) quedan divididas en distintos superpíxeles. En su lugar, un solo superpíxel debería abarcar la estructura completa. No obstante, esta limitación también permite diferenciar más fácilmente las LR muy próximas a la vasculatura. Por otra parte, sería deseable contar con una BD de mayor tamaño para evaluar la generalización del método. En trabajos futuros se pretende ampliar la BD y segmentar las LR pequeñas de manera independiente a las de mayor tamaño. Al preprocesar la imagen, se tendrán en cuenta otros espacios de color que conserven la información cromática. Asimismo, se tratará de extender la idea de clasificación de superpíxeles a la segmentación de otras lesiones o estructuras retinianas.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el método propuesto es útil para la detección automática de LR en retinografías. El concepto del superpíxel es adecuado para separar las distintas estructuras de la imagen. Asimismo, el algoritmo SLIC supone una técnica rápida y efectiva de segmentación de LR. Además, prescindir de las etapas de segmentación de las principales estructuras anatómicas de la retina, evita los posibles errores derivados de esas fases. En definitiva, el método propuesto podría ser de ayuda para la detección temprana de la RD, reduciendo la carga de trabajo de los especialistas y mejorando la atención de los pacientes diabéticos.

Estudio	SE_i	ES_i	PR_i
Seoud et ál. [3]	87.7%	85.9%	-
García et ál. [9]	100%	60%	80%
Zhou et ál. [5]	83.3%	97.3%	-
Orlando et ál. [4]	91.1%	-	-

Tabla 2. Resultados de otros estudios.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el ‘Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades’ y el ‘Fondo Europeo de Desarrollo Regional’ (FEDER) bajo los proyectos RTC-2015-3467-1 y DPI2017-84280-R, y 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’).

Referencias

- [1] Abràmoff MD, Garvin MK, Sonka M. Retinal Imaging and Image Analysis. *IEEE Rev. Biomed. Eng.*, vol. 3, pp. 169–208, 2010.
- [2] Mookiah MRK, Acharya UR, Chua CK, Lim CM, Ng EYK, Laude A. Computer-aided diagnosis of diabetic retinopathy: A review. *Comput. Biol. Med.*, vol. 43, no. 12, pp. 2136–2155, 2013.
- [3] Seoud L, Hurtut T, Chelbi J, Cheriet F, Langlois JMP. Red Lesion Detection Using Dynamic Shape Features for Diabetic Retinopathy Screening. *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 35, no. 4, pp. 1116–1126, 2016.
- [4] Orlando JI, Prokofyeva E, del Fresno M, Blaschko MB. An ensemble deep learning based approach for red lesion detection in fundus images. *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 153, pp. 115–127, 2018.
- [5] Zhou W, Wu C, Chen D, Wang Z, Yi Y, Du W. Automated Detection of Red Lesions Using Superpixel Multichannel Multifeature. *Comput. Math. Methods Med.*, vol. 2017, 2017.
- [6] Achanta R, Shaji A, Smith K, Lucchi A, Fua P, Süsstrunk S. SLIC superpixels compared to state-of-the-art superpixel methods. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 34, no. 11, pp. 2274–2281, 2012.
- [7] Zhang X, Thibault G, Decencièrre E, Marcotegui B, Laÿ B, Danno R, Cazuguel G, Quèllec G, Lamard M, Massin P, Chabouis A, Victor Z, Erginay A. Exudate detection in color retinal images for mass screening of diabetic retinopathy. *Med. Image Anal.*, vol. 18, no. 7, pp. 1026–1043, 2014.
- [8] Romero-Oraá R, García M, Jiménez-García J, López MI, Hornero R. Detección de lesiones rojizas en imágenes de fondo de ojo aplicando diferencias de color en el espacio CIELAB. *Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, pp. 225–228, 2017.
- [9] García M, Sánchez CI, López MI, Hornero R. Automatic Detection of Red Lesions in Retinal Images Using a Multilayer Perceptron Neural Network. *30th Ann. Inter. Conf. IEEE Engi. in Med. and Bio. Soc.* pp. 5425–5428, 2008.
- [10] Welikala RA, Dehmeshki J, Hoppe A, Tahb V, Mann S, Williamson TH, Barmana SA. Automated detection of proliferative diabetic retinopathy using a modified line operator and dual classification. *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 114, no. 3, pp. 247–261, 2014.
- [11] Yu L, Liu H. Efficient Feature Selection via Analysis of Relevance and Redundancy. *J. Mach. Learn. Res.*, vol. 5, pp. 1205–1224, 2004.
- [12] Bishop C. *Neural Networks for Pattern Recognition*, 1st ed., vol. 1995. New York: Oxford University Press, 1995 (ISBN: 0198538642).

Evaluación automática de la calidad en retinografías mediante clasificación de características globales de imágenes

J. Jiménez García¹, R. Romero Oraá¹, M. García Gadañón¹, M.I. López Gálvez^{2,3}, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {jorge.jimenez,roberto.romero}@gib.tel.uva.es {margar,robhor}@tel.uva.es

² IOBA (Instituto de Oftalmología Aplicada), Universidad de Valladolid, Valladolid, España, maribel@ioba.med.uva.es

³ Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

Resumen

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método para determinar de manera automática si las retinografías tienen calidad suficiente para ser analizadas. Para ello se diseñó un método con tres pasos. En primer lugar, se realizó un preprocesado para normalizar las imágenes. A continuación, se extrajeron características de las imágenes en base a métodos de evaluación de calidad de imagen genéricos, la transformada wavelet continua (CWT) y la iluminación del fondo de la imagen empleando el espacio de color HSV (Hue Saturation Value). Para la clasificación de las retinografías se empleó una red neuronal de tipo perceptrón multicapa (MLP). Se empleó una base de datos de 2107 retinografías, que se dividió en dos subconjuntos independientes de entrenamiento y test. A cada subconjunto se destinaron el 50% de las imágenes. Los resultados obtenidos en el conjunto de test alcanzaron una precisión del 93.17%, con una sensibilidad del 95.58%, un valor predictivo positivo del 96.43% y una especificidad del 78.52%. El método propuesto podría ser una importante ayuda como parte de un sistema de cribado y diagnóstico de enfermedades oculares.

1. Introducción

La Retinopatía Diabética (RD) es una complicación visual de la diabetes, que se ha convertido en la principal causa de pérdida de la visión en países desarrollados [1]. El tratamiento de la RD es más efectivo si se detecta en sus fases más tempranas, aunque sus síntomas no son apreciables hasta las etapas más avanzadas. Es por ello que resulta fundamental establecer programas de cribado de la enfermedad [1]. Se ha demostrado la utilidad de las retinografías en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades como el glaucoma, la degeneración macular asociada a la edad y la RD, entre otras [1]. Sin embargo, la gran cantidad de retinografías que deben analizar los especialistas hace necesario el desarrollo de métodos automáticos para la ayuda al diagnóstico [1].

En ocasiones, las retinografías no pueden ser analizadas debido a una adquisición defectuosa o a la presencia de artefactos. [2]. En estos casos, algunas estructuras oculares de la retina o lesiones no se aprecian claramente [3]. La implementación de algoritmos para evaluar automáticamente la calidad de las imágenes es necesaria para determinar si el proceso de captura de la imagen ha sido exitoso y se podría incorporar en algoritmos más complejos para el cribado y diagnóstico de la RD.

La evaluación de la calidad en retinografías ha sido ampliamente estudiada en la literatura. Los métodos

propuestos se pueden dividir en métodos estructurales y métodos genéricos [2]. Los primeros determinan si las estructuras oculares se muestran con una claridad suficiente, prestando especial atención a la red de vasos sanguíneos [2]. Los métodos genéricos se basan en evaluar características globales como enfoque, iluminación no uniforme, contraste, etc. [3]. Dentro de estos últimos, recientemente se han aplicado algoritmos de evaluación de la calidad sin referencia (NR-IQA, *No Reference Image Quality Assessment*) [4]. Algunos algoritmos NR-IQA se basan en el enfoque *Natural Scenes Statistics* (NSS), que sostiene que las imágenes de buena calidad tienen propiedades estadísticas medibles [4]. Las distorsiones sufridas por las imágenes alteran dichas propiedades [4].

En este trabajo se han combinado técnicas genéricas NR-IQA basadas en NSS y técnicas de análisis de la nitidez y la luminosidad de las retinografías. Se extrajeron características aplicando los métodos *Natural Image Quality Evaluator* (NIQE) [4], *Spatial and Spectral Entropy-based Quality* (SSEQ) [5], la transformada wavelet continua (CWT) y analizando la luminosidad de la imagen. Finalmente, se seleccionó un conjunto de características y se clasificaron empleando una red neuronal artificial (RNA) perceptrón multicapa (MLP, *Multilayer Perceptron*) para estimar la calidad de la imagen.

2. Base de datos de retinografías

La base de datos empleada contiene 2107 retinografías proporcionadas por el Instituto de Oftalmología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid y el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Todas las imágenes se capturaron con el retinógrafo no midriático TopCon TRC-NW400 con un campo de visión (FOV, *Field of View*) de 45°, y fueron codificadas en color empleando el formato JPEG de 24 bits. La resolución de las imágenes es de 1956×1934 píxeles. Para cada una de las imágenes, un especialista determinó si tenían la calidad suficiente para ser analizadas. Se dividieron todas las imágenes de manera aleatoria en dos conjuntos independientes: entrenamiento y test. El conjunto de entrenamiento estaba formado por 1053 imágenes (905 de buena calidad y 148 de mala calidad), mientras que al conjunto de test se destinaron 1054 imágenes (905 de buena calidad y 149 de mala calidad).

3. Métodos

3.1. Preprocesado

Tomando como entrada una retinografía en color (Figura 1(a)), se obtiene en primer lugar una máscara circular que delimita el FOV [6]. Para evitar efectos de borde, se utilizó posteriormente un método de extensión del FOV [7] con el que se sustituyen los píxeles negros del borde exterior al FOV por un promedio de los píxeles de su borde interior. En la Figura 1(b) se puede ver el resultado de esta técnica.

3.2. Extracción de características

En la fase de extracción de características, cada imagen se describió con un patrón mediante un vector de características [8]. Dichas características se obtuvieron aplicando métodos de análisis de calidad de imagen. En primer lugar, se empleó el método NIQE [4]. Se trata de un método que evalúa la calidad de una imagen mediante la distancia entre los modelos NSS que describen las propiedades de las imágenes de buena calidad y las propiedades de la imagen a evaluar [4]. Para crear el modelo NSS, la imagen de entrada se normalizó restando la media local y dividiendo entre la desviación típica local [4]. Después, la imagen se dividió en bloques y se seleccionaron aquellos que superaron un umbral de contraste. Se fijaron el tamaño de bloque en 64×64 píxeles y el umbral de contraste en 0.1 de manera empírica con el objetivo de lograr la máxima capacidad discriminatoria [4]. Posteriormente, se estimaron varios parámetros sobre la distribución de los píxeles de cada bloque. Con los datos extraídos de todos los bloques, se definió un modelo gaussiano multivariante (MVG), con el vector de medias \mathbf{v} y la matriz de covarianzas Σ como [4]:

$$f_{\mathbf{x}}(\mathbf{x}) = \frac{1}{\sqrt{|\Sigma|(2\pi)^k}} e^{-\frac{1}{2}(\mathbf{x}-\mathbf{v})^T \Sigma^{-1}(\mathbf{x}-\mathbf{v})} \quad (1)$$

Se obtuvieron un modelo MVG de las imágenes de buena calidad extraídas del conjunto de entrenamiento (\mathbf{v}_M, Σ_M) y otro modelo MVG de la imagen a evaluar (\mathbf{v}_I, Σ_I). La evaluación de la calidad de una imagen mediante NIQE se hace a través de la distancia [4]:

$$D_{NIQE} = \sqrt{(\mathbf{v}_I - \mathbf{v}_M)^T \left(\frac{\Sigma_I + \Sigma_M}{2} \right)^{-1} (\mathbf{v}_I - \mathbf{v}_M)} \quad (2)$$

El segundo método de extracción de características NSS aplicado fue SSEQ. Este método se basa en la entropía de Shannon, tanto en el dominio espacial como en el dominio de la frecuencia [5]. La imagen se dividió en bloques y se calcularon tanto la entropía espacial (*SpacEn*) como la entropía espectral (*SpecEn*) de cada bloque [5]. Después se analizó la distribución de los datos obtenidos tomando la media y la asimetría, tanto de la *SpacEn* como de la *SpecEn* [5]. El procedimiento se repitió escalando las imágenes a 1/2 y 1/3 de su resolución, pero manteniendo el tamaño de bloque para realizar un análisis multiescala [5]. En total, se obtuvieron 12 características. Se eligió el tamaño de bloque 32×32 píxeles de manera empírica para lograr una buena capacidad discriminatoria.

Por otra parte, se aplicó un método basado en la CWT. Ésta es una técnica útil para localizar estructuras de varios tamaños y bordes definidos como papila, vasos sanguíneos y lesiones propias de la RD [7, 9]. Se utilizó la *wavelet Mexican Hat* como wavelet madre, ya que es una wavelet isotrópica muy utilizada para detección de bordes multiescala [7]. Se emplearon 6 valores de escala para localizar estructuras de múltiples tamaños en el canal *G* del

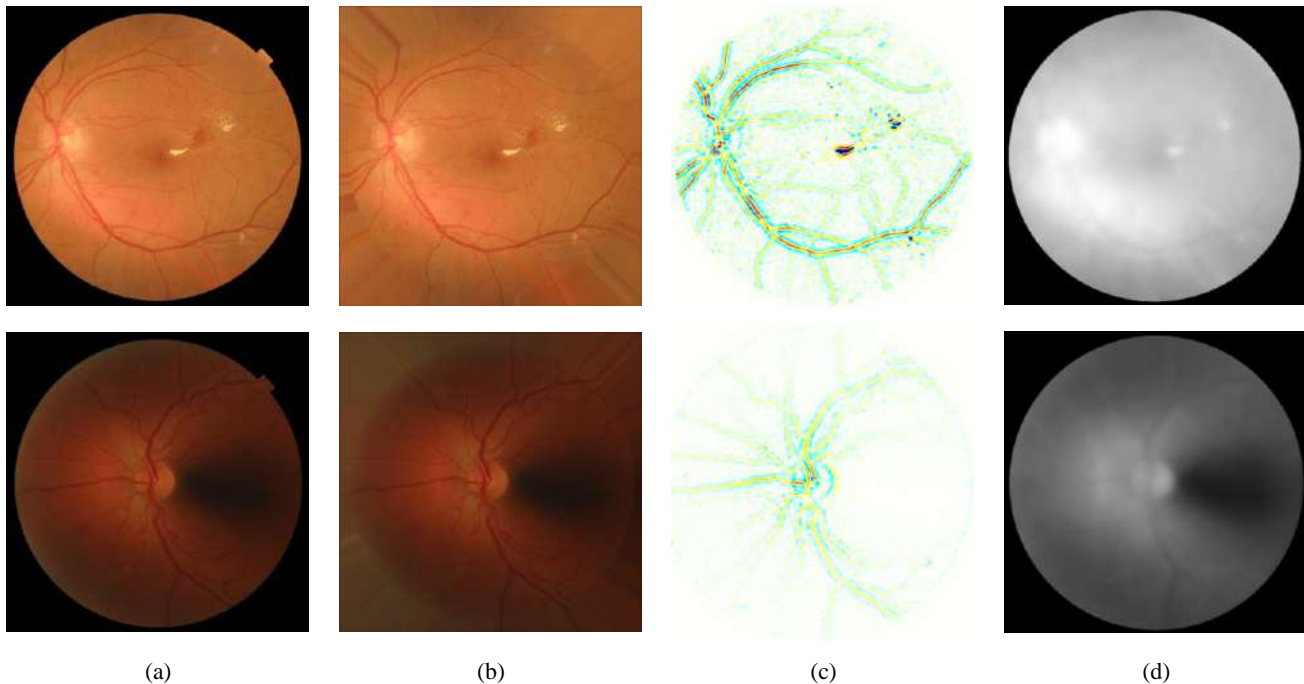


Figura 1. Métodos de preprocesado y análisis: (a) imagen original; (b) resultado del método de extensión del FOV; (c) resultado de la CWT para la escala $s = 8$; (d): resultado del método de extracción del fondo en el canal V. Fila superior: imagen de buena calidad. Fila inferior: imagen de calidad insuficiente.

modelo de color RGB. Posteriormente, se analizó la respuesta de la CWT a cada escala mediante la entropía de Shannon y la respuesta de un filtro de desviación típica circular de radio igual a la escala empleada en cada caso [10]. La respuesta de este filtro se analizó calculando la media y la desviación típica. En total, se extrajeron 18 características: 6 entropías (*CWT_Ent*), 6 medias (*CWT_Med*) y 6 desviaciones típicas (*CWT_Dev*) correspondientes a las escalas $s = 2, 4, 8, 16, 32$ y 64 . Estas escalas se relacionan con el tamaño típico de las estructuras oculares. En la Figura 1(c) se muestra el resultado de la CWT para la escala $s = 8$.

Finalmente, se extrajeron características relacionadas con la luminosidad de la imagen [3]. Se utilizó el canal *V* del modelo de color HSV (*Hue Saturation Value*), que resulta útil en retinografías para evaluar la luminosidad de la imagen [11]. Se obtuvo el fondo de la imagen aplicando un filtro de mediana para eliminar ruido, seguido de un filtro gaussiano con parámetro $\sigma = 19$ para eliminar los vasos [2]. El resultado de esta técnica se muestra en la Figura 1(d). Posteriormente, se analizó el histograma del fondo y se tomaron los valores de luminosidad (*Lum*) correspondientes a los percentiles 1, 5, 10, 15 y 20%, relacionados con la luminosidad de las zonas más oscuras de la imagen. Valores altos de estos percentiles indicarían imágenes con una iluminación aceptable. Además, la diferencia entre percentiles puede ser de interés para determinar la uniformidad del histograma de la imagen de fondo retiniano obtenida, por lo que también se incluyeron como características (*Lum_Dif*).

3.3. Selección de características y clasificación

Mediante la aplicación de los anteriores métodos, se extrajeron un total de 40 características. Se aplicó el algoritmo de selección de características FCBF (*Fast Correlation-Based Filter*) para seleccionar un subconjunto de características que aportasen la máxima información y reducir la redundancia entre las características obtenidas [12]. FCBF está basado en la información mutua entre pares de características, y utiliza la medida *Symmetrical Uncertainty* (SU) como medida de correlación. En primer lugar, selecciona las características más relevantes y después elimina las características redundantes [12].

Por último, las características se clasificaron empleando una RNA de tipo MLP de tres capas: una capa de entrada, una capa oculta y una capa de salida, muy utilizada en reconocimiento de patrones [8]. Para prevenir el sobreajuste del clasificador a los datos de entrenamiento y lograr un clasificador generalizable, se ajustó el parámetro de regularización η de la red y se introdujo un criterio de parada temprana (*early stopping*). Además, se empleó el algoritmo SMOTE (*Synthetic Minority Oversampling TEchnique*) para balancear el número de muestras procedentes de imágenes de mala calidad con la cantidad de muestras de imágenes de buena calidad [13].

4. Resultados

Las características seleccionadas por el algoritmo FCBF se muestran en la Tabla 1. Además, se entrenó la red MLP con estas características para estimar el número de neuronas en

la capa oculta y el parámetro η para la clasificación. Para ello, se empleó validación cruzada con 10 repeticiones. Los mejores resultados en el conjunto de entrenamiento se lograron con 30 neuronas ocultas y $\eta = 0.2$.

La red MLP entrenada con estos parámetros se utilizó para obtener los resultados sobre el conjunto de test. La clasificación proporcionada por la red MLP se comparó con las anotaciones realizadas por los expertos calculándose precisión (*Acc*), sensibilidad (*Se*), especificidad (*Sp*) valor predictivo positivo (*VPP*) y *F-Score* [14]. Los resultados obtenidos en los conjuntos de entrenamiento y test se resumen en la Tabla 2.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha propuesto un método para determinar automáticamente la calidad en retinografías basado en la extracción de características globales mediante distintas técnicas y clasificación mediante MLP. La implementación de los algoritmos NR-IQA genéricos es una contribución novedosa. Hasta donde tenemos conocimiento, el indicador NIQE se ha empleado en un trabajo reciente [15], y la técnica SSEQ no se ha empleado en análisis de retinografías. Por otra parte, la CWT se ha empleado en trabajos previos [7, 9, 16], pero no tenemos conocimiento de que se haya utilizado para evaluar la calidad de la imagen. La luminosidad en retinografías se ha estudiado ampliamente, aunque en general se han utilizado los modelos RGB, YUV o CIELAB en detrimento del espacio HSV [11].

Los resultados sobre el conjunto de test mostraron 32 falsos positivos y 40 falsos negativos en un total de 1054 instancias. Se observó que *Sp* fue muy inferior a la lograda sobre el conjunto de entrenamiento. Esto puede ser debido a que el conjunto de test se encuentra muy desbalanceado, con muchas más imágenes de buena calidad. Por otra parte, *Se*, *VPP* y *F-Score* muestran que el método propuesto es capaz de discernir las retinografías de buena calidad de una manera precisa y fiable.

Característica	SU	Característica	SU
<i>CWT_Ent</i> ($s = 4$)	0.4182	<i>D_NIQE</i>	0.3574
Media <i>SpecEn</i> (esc. 1)	0.3378	<i>CWT_Ent</i> ($s=16$)	0.3281
Asim. <i>SpecEn</i> (esc. 1)	0.2380	Asim. <i>SpecEn</i> (esc. 1)	0.2325
<i>CWT_SD</i> ($s = 32$)	0.1896	<i>Lum</i> (Perc 5%)	0.1659
Media <i>SpecEn</i> (esc. 3)	0.1235	<i>Lum_Dif</i> (10% - 15%)	0.1046
<i>Lum_Dif</i> (1% - 5%)	0.0850	Asim. <i>SpecEn</i> (esc. 3)	0.0752
Asim. <i>SpecEn</i> (esc. 3)	0.0686		

Tabla 1. Características seleccionadas por el algoritmo FCBF.

Conjunto	<i>Acc</i>	<i>Se</i>	<i>Sp</i>	<i>VPP</i>	<i>F-Score</i>
Entrenamiento	98.10%	98.23%	96.62%	99.44%	0.9889
Test	93.17%	95.58%	78.52%	96.43%	0.9600

Tabla 2. Resultados en los conjuntos de entrenamiento y test.

Los resultados obtenidos están en la línea con los obtenidos en otros estudios previos. En Wang *et al.* [17] se utilizó un clasificador SVM, obteniéndose $Se=87.45\%$ y $Sp=91.66\%$. Otros autores [18] obtuvieron una $F\text{-Score}$ de 0.878 utilizando un índice de calidad basado en la entropía *wavelet*. Shao *et al.* [15] utilizaron el indicador de calidad NIQE junto con otras medidas basadas en iluminación y estructurales, obteniendo $Acc=93.60\%$. El MLP también se ha empleado como clasificador en [3], obteniendo Se y Sp superiores al 99% empleando características genéricas de color, enfoque, contraste e iluminación. Sin embargo, cada uno de estos estudios se ha realizado sobre diferentes bases de datos y empleando criterios de evaluación distintos, por lo que los resultados son difíciles de comparar.

Este estudio también presenta una serie de limitaciones que es conveniente reseñar. En primer lugar, el número de ejemplos de imágenes de mala calidad es reducido en nuestra base de datos. En el futuro, se tratará de completar la misma con más ejemplos de imágenes de calidad insuficiente para verificar los resultados obtenidos. En segundo lugar, el método propuesto utilizó únicamente medidas globales ignorando la variación a lo largo de la imagen de las características de iluminación, contraste, nitidez, etc. Sería deseable incluir métodos adicionales que tuviesen también en cuenta la calidad local en la imagen. Por último, de cara a mejorar los resultados, sería conveniente estudiar métodos de clasificación alternativos a la red MLP y considerar el uso de *Deep Learning* mediante redes neuronales convolucionales.

Como conclusión, las características extraídas de los métodos NIQE y SSEQ, la CWT y el análisis de la luminosidad proporcionan información valiosa para decidir si una retinografía tiene calidad suficiente para ser analizada. Los resultados obtenidos sobre el conjunto de test muestran que el método propuesto puede ayudar a determinar la calidad de las imágenes en un sistema de análisis de retinografías más general de ayuda al diagnóstico y cribado de la RD.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el ‘Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades’ y el ‘Fondo Europeo de Desarrollo Regional’ (FEDER) bajo los proyectos RTC-2015-3467-1 y DPI2017-84280-R, y 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’).

Referencias

- [1] Mookiah MRK *et al.*, Computer-aided diagnosis of diabetic retinopathy: A review. *Comput. Biol. Med.*, vol. 43, no. 12, pp. 2136–2155, 2013.
- [2] Welikala RA *et al.*, Automated retinal image quality assessment on the UK Biobank dataset for epidemiological studies. *Comput. Biol. Med.*, vol. 71, pp. 67–76, 2016.
- [3] Pires Dias JM *et al.*, Retinal image quality assessment using generic image quality indicators. *Inf. Fusion*, vol. 19, no. 1, pp. 73–90, 2014.
- [4] Mittal A *et al.*, Making a “Completely Blind” Image Quality Analyzer. *IEEE Signal Process. Lett.*, vol. 20, no. 3, pp. 209–212, 2013.
- [5] Liu L *et al.*, No-reference image quality assessment based on spatial and spectral entropies. *Signal Process. Image Commun.*, vol. 29, no. 8, pp. 856–863, 2014.
- [6] Romero-Oraá R *et al.*, Localización automática de la papila y la fovea en retinografías. *Libro de Actas del XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2016)*, 2016, vol. 1, pp. 173–176.
- [7] Soares JVB *et al.*, Retinal vessel segmentation using the 2-D Gabor wavelet and supervised classification. *Med. Imaging, IEEE Trans.*, vol. 25, no. 9, pp. 1214–1222, 2006.
- [8] Jain AK *et al.*, Statistical pattern recognition: a review. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 22, no. 1, pp. 4–37, 2000.
- [9] Koh JEW *et al.*, Diagnosis of retinal health in digital fundus images using continuous wavelet transform (CWT) and entropies. *Comput. Biol. Med.*, vol. 84, no. March, pp. 89–97, 2017.
- [10] Aja-Fernandez S *et al.*, Image quality assessment based on local variance. *IEEE Int. Conf. Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 1, pp. 4815–4818, 2006.
- [11] Zhou M *et al.*, Color Retinal Image Enhancement Based on Luminosity and Contrast Adjustment. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 65, no. 3, pp. 1–1, 2017.
- [12] Yu L *et al.*, Efficient Feature Selection via Analysis of Relevance and Redundancy. *J. Mach. Learn. Res.*, vol. 5, pp. 1205–1224, 2004.
- [13] Chawla NV *et al.*, SMOTE: Synthetic minority over-sampling technique. *J. Artif. Intell. Res.*, vol. 16, pp. 321–357, 2002.
- [14] Saito T *et al.*, The precision-recall plot is more informative than the ROC plot when evaluating binary classifiers on imbalanced datasets. *PLoS One*, vol. 10, no. 3, pp. 1–21, 2015.
- [15] Shao F *et al.*, Automated quality assessment of fundus images via analysis of illumination, naturalness and structure. *IEEE Access*, vol. 6, 2017.
- [16] Fathi A *et al.*, Automatic wavelet-based retinal blood vessels segmentation and vessel diameter estimation. *Biomed. Signal Process. Control*, vol. 8, no. 1, pp. 71–80, 2013.
- [17] Wang S *et al.*, Human Visual System-Based Fundus Image Quality Assessment of Portable Fundus Camera Photographs. *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 35, no. 4, pp. 1046–1055, 2016.
- [18] Abdel-Hamid L *et al.*, No-reference quality index for color retinal images. *Comput. Biol. Med.*, vol. 90, no. September, pp. 68–75, 2017.

DESARROLLO DE UNA HERRAMIENTA PARA LA DETECCIÓN AUTOMÁTICA DEL PLANO VALVULAR MITRAL MEDIANTE ALGORITMOS DE DEEP LEARNING

M. Giménez Ucendo¹, D. Bermejo-Peláez¹, J.E Ortuño Fisac¹, E.R McVeigh², M.J Ledesma-Carbayo¹

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid & CIBER Madrid, España.

² Department of Bioengineering, UC San Diego, La Jolla, CA, USA

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en España. Este hecho incentiva el desarrollo de herramientas automáticas de ayuda al diagnóstico de las mismas basadas en imágenes médicas. Por otro lado, una de las estructuras cardíacas con mayor importancia en el corazón es la válvula mitral. La localización y detección automática del plano que la contiene puede ayudar a la obtención de biomarcadores relacionados con la función del ventrículo izquierdo, así como apoyar en el diagnóstico y la planificación terapéutica de las diversas patologías en las que puede estar involucrada.

En este trabajo se propone un método basado en Redes Neuronales Convolucionales (CNN) para la detección y localización automática del plano valvular mitral de forma dinámica a lo largo de ciclo cardíaco a partir de secuencias de imágenes de CT cardíaco. El método propuesto se ha entrenado y validado con 96 frames correspondientes a 12 pacientes diferentes.

1. Motivación

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte de nuestro país, representando según el Instituto Nacional de Estadística un 29,2% de los fallecimientos en el 2016. Tanto los hábitos saludables como el diagnóstico precoz de dichas enfermedades son de vital importancia para disminuir el grado de afectación. Una de las estructuras cardíacas de alta importancia para gran parte de estas enfermedades es la válvula mitral [1]. La válvula mitral es la encargada de regular el flujo sanguíneo desde la aurícula izquierda al ventrículo izquierdo, y el estudio del plano que define nos proporciona gran cantidad de información.

En primer lugar, la localización del plano mitral nos permite analizar el estado de la válvula y diagnosticar un conjunto de enfermedades cardiovasculares conocido como valvulopatías asociadas a dicha válvula. Las valvulopatías son las enfermedades propias de las válvulas del corazón. En la actualidad, la prueba principal que se utiliza para diagnosticar este tipo de patologías es el ecocardiograma, la cual es la más rápida y económica. Sin embargo, para realizar un diagnóstico profundo, y, sobre todo, para realizar una correcta y minuciosa localización de la válvula mitral de cara a la planificación de una posible intervención, es necesario el uso de otras modalidades de imagen con mayor resolución espacial como la Tomografía computarizada (CT). El tratamiento de las valvulopatías no sólo se ha desarrollado de manera notable en las últimas décadas por el continuo progreso de la tecnología protésica valvular, sino que también se ha reorientado hacia el desarrollo de intervenciones quirúrgicas reparadoras y la introducción de técnicas de intervención percutánea. En definitiva, es necesario llevar a cabo un estudio previo muy detallado de la localización y estado de la válvula mitral,

que a su vez queda definido por la observación y medidas en el entorno del plano valvular mitral que determinan el posterior tratamiento.

En segundo lugar, el plano valvular mitral no solo es útil para la localización de las válvulas para su diagnóstico y planificación terapéutica, sino que la detección del plano valvular mitral sirve para llevar a cabo multitud de medidas cuantitativas de la propia válvula, como por ejemplo medidas del diámetro valvular, área valvular, así como la obtención de otros parámetros funcionales del ventrículo izquierdo como la fracción del volumen de eyección durante el ciclo cardíaco de manera más precisa. Estas medidas tienen gran valor diagnóstico y permiten definir la estrategia de tratamiento o intervención más adecuada.

Por otro lado, a lo largo del ciclo cardíaco el corazón está en continuo movimiento. Para una correcta visualización (y posterior cuantificación) de ciertas estructuras del corazón de forma dinámica a lo largo del ciclo cardíaco, se requiere de una corrección de este movimiento. Dicha corrección de movimiento se podría llevar a cabo en un volumen reformateado según el eje largo del corazón, el cual dependería de una previa localización del plano valvular mitral

Hasta ahora, la localización del plano valvular mitral se ha realizado de forma manual, conllevando de esta forma un alto coste tanto en términos económicos como de tiempo. Es por ello que el desarrollo de una herramienta capaz de detectar el plano valvular mitral de manera automática durante el ciclo cardíaco podría favorecer la realización de medidas más precisas y mitigar las limitaciones descritas anteriormente.

2. Metodología

2.1 Planteamiento del problema

El objetivo fundamental del trabajo realizado es la detección y localización automática de la válvula mitral durante el ciclo cardíaco. Este problema se va a abordar llevando a cabo la localización de tres puntos anatómicos de la válvula cardíaca correspondientes a las inserciones de los velos valvulares. Geométricamente, estos tres puntos, puesto que no estarán alineados, definirán el plano que contiene la válvula mitral.

En este trabajo se propone llevar a cabo la localización de dichos puntos en los planos ortogonales que definen los ejes largos del corazón (sagital y coronal) dado un volumen cardíaco reformateado según la dirección axial del corazón. Se supone por tanto necesario un reformateo previo del volumen cardíaco según el eje del ventrículo izquierdo. Este paso previo se puede realizar de forma automática en estaciones de trabajo de CT cardíaco.

Por tanto, para llevar a cabo la localización y detección de estos tres puntos que definen el plano valvular mitral, se propone la siguiente metodología compuesta de dos fases diferenciadas. La primera fase consiste en la detección de aquellas vistas bidimensionales (ejes largos del corazón, sagital y coronal), dado el volumen cardíaco en 3D reformateado, que contengan los puntos de interés. Esta tarea se llevará a cabo mediante una Red Neuronal Convolutiva (CNN) de clasificación que seleccionará el plano donde se realizará la posterior localización de los puntos de interés. La segunda etapa del método propuesto consiste en la detección de los puntos de interés, dado los planos predichos y localizados de la fase anterior. Para ello se propone el uso de una segunda CNN de detección, que detectará y localizará los puntos en los planos seleccionados por la primera CNN.

Esta operación se repetirá para cada una de las vistas (sagital y coronal). Dos de los puntos de interés se localizarán en el eje largo sagital del corazón, mientras que el tercero se detectará en eje largo coronal. En definitiva, se utilizarán dos CNNs de clasificación (una para cada vista) y tres CNNs de detección (una para cada punto). De esta forma, podremos detectar de forma automática las coordenadas tridimensionales de los 3 puntos que definen el plano valvular mitral. Esta metodología en dos fases queda definida en la Figura 1.

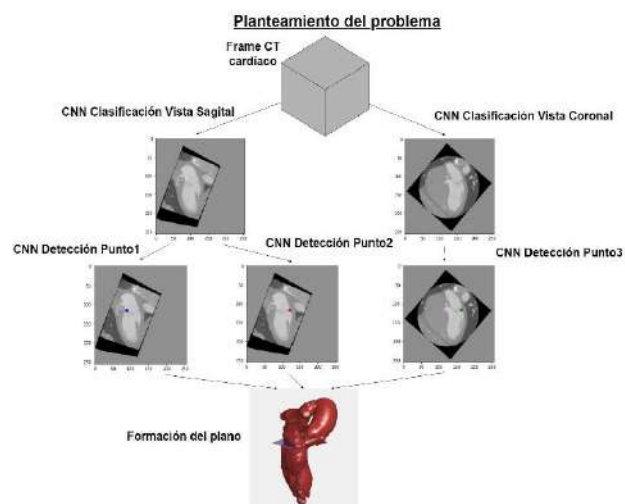


Figura 1. Representación esquemática del planteamiento del problema.

2.2 Red Neuronal Convolutiva de clasificación

Como se ha explicado anteriormente, en esta primera etapa, una primera CNN de clasificación seleccionará aquellas vistas bidimensionales en los ejes largos donde posteriormente se podrá llevar a cabo la detección de los puntos de interés. Esta red de clasificación recibirá como entrada cada una de las vistas bidimensionales que contenidas en el volumen cardíaco para poder ser clasificadas de forma binaria como vistas “aptas” o “no aptas” para la detección de los puntos. Estas imágenes bidimensionales tienen un tamaño de 256x256 píxeles. A esta capa de entrada le siguen dos capas convolutivas, con un banco de 32 filtros cada una, todos ellos de tamaño 3x3 para captar información local de la imagen. Estas primeras capas serán las encargadas de aprender las

características de bajo nivel de los datos de entrada. A estas capas convolucionales, le sigue una capa de submuestreo de tipo *max-pooling* con un campo receptivo de 2x2, seguida de otras dos capas convolucionales (64 filtros de 3x3) y otra de submuestreo. Una vez llegados a este punto, la red habrá extraído y aprendido las características directamente de los datos de entrada para su correcta clasificación. Cabe destacar que después de cada capa convolutiva se aplica a la salida la función no lineal ReLU.

La arquitectura finaliza con una sucesión de tres capas densamente conectadas (Perceptrón Multicapa) cuya función es unificar toda la información de las características extraídas de las capas convolucionales. La última capa, tendrá dos neuronas (clasificación binaria anteriormente comentada) con una activación no lineal tipo *softmax* que proporciona las probabilidades de que la entrada pertenezca a cada una de las clases.

La arquitectura de la CNN de clasificación se puede observar en la Figura 2a.

2.3 Red Neuronal Convolutiva de detección

Una vez seleccionada la vista óptima para la detección de los puntos de interés, se predecirán las coordenadas de los mismos mediante una Red Neuronal Convolutiva de detección.

En esta red de detección o regresión de las coordenadas de los puntos de interés, las capas convolucionales y de agrupamiento tienen el mismo tamaño que en la red de clasificación y en su salida se aplica también la función no lineal ReLU. Sin embargo, esta red de detección es más compleja y profunda, formada por 12 capas convolucionales y 5 de agrupamiento, ya que las características discriminativas para la detección de los puntos son más complejas. Finalmente termina con tres capas densamente conectadas cuya capa de salida está formada por dos neuronas correspondientes a las dos coordenadas predichas (ver Figura 2b). En este caso no se hará uso de la función *softmax* ya que esta CNN es una red de regresión que tiene como salida la estimación de las coordenadas x, y del punto que se desea localizar.

Cabe destacar que tanto en la red de clasificación como en la de detección, el entrenamiento se basa en un problema de optimización para la minimización de la función de coste, en clasificación se optimiza la entropía cruzada y en

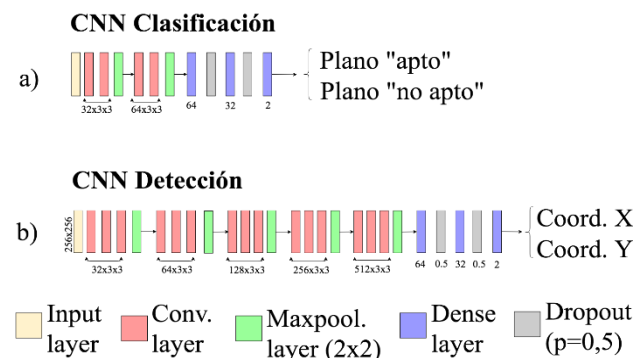


Figura 2. Configuraciones de las arquitecturas de las CNN de clasificación (a) y detección (b)

detección el error cuadrático medio. En los dos casos se utiliza el método de descenso de gradiente estocástico (SGD) con una actualización de momentos de Nesterov [2].

2.4 Prevención del sobreajuste

Las Redes Neuronales Convolucionales, que involucran miles de parámetros, tienden fácilmente al sobreajuste de los mismos a la base de datos de entrenamiento, impidiendo una correcta generalización. Este problema se ha abordado utilizando cuatro técnicas diferentes.

En primer lugar, se ha utilizado la técnica de la interrupción anticipada, la cual detiene el entrenamiento de la red antes de que empiece el sobreajuste [3].

En segundo lugar, se ha aplicado una regularización de la función de coste. Mediante la regularización L2 se penaliza la magnitud al cuadrado de todos los pesos de la red (w) directamente en la función de coste añadiendo un término regularizador de valor $\frac{1}{2}\lambda w^2$, donde λ es el parámetro regularizador [4]. Este método penaliza los cambios abruptos dando preferencia a los cambios suaves en la dirección del gradiente de error.

También se ha aplicado la técnica de *dropout*, consistente en desconectar aleatoriamente ciertas neuronas a lo largo de la arquitectura con una cierta probabilidad durante el entrenamiento [5]. Esta práctica es equivalente a entrenar un conjunto de redes que contenga todas las posibles configuraciones de dicha red. De esta forma, se disminuirá el sobreajuste.

Por último, se ha aplicado la técnica de aumento de datos. Esta técnica se basa en aumentar el conjunto de datos para que haya mayor variabilidad en el conjunto de datos de entrenamiento provocando que sea más difícil el sobreajuste. En este caso, se han multiplicado por 5 el número de imágenes de entrenamiento mediante combinaciones de transformaciones de rotación ($\pm 20^\circ$), escala ($\pm 10\%$) y traslación en ambos ejes de la imagen ($\pm 20\%$ de la longitud de los mismos).

3. Experimentos y Resultados

El conjunto de datos utilizado en este trabajo consiste en 96 *frames* (sin el aumento de datos aplicado) de CT cardiacos correspondientes a la fase de sístole provenientes de 12 pacientes diferentes (8 *frames* por paciente). Para cada uno de los pacientes y para cada *frame* de los mismos, se llevó a cabo una localización manual a través de la herramienta OsiriX de los tres puntos de interés conformando así la base de datos de entrenamiento y validación de la herramienta propuesta. Cabe destacar que se han eliminado del estudio aquellos *frames* correspondientes a la fase de diástole debido a la gran dificultad de detectar visualmente los puntos de interés causada por la apertura de la válvula durante esta fase del ciclo cardiaco.

3.1 Metodología de evaluación y justificación de hiperparámetros

Para realizar una evaluación de los experimentos y poder justificar la elección de los hiperparámetros se han dividido

los datos de los 12 pacientes en 3 grupos. Por un lado, tres pacientes forman el conjunto de *test* para la evaluación de la metodología, mientras que 9 pacientes se reservaron para el entrenamiento y la elección de hiperparámetros de las mismas (conjunto de entrenamiento y validación). La separación de pacientes para el entrenamiento y validación se realizó utilizando el método de validación cruzada de 9 iteraciones, asegurando que 8 pacientes se utilizan para training y 1 para validación en cada iteración.

Mediante esta metodología se pudo optimizar las arquitecturas de ambas redes de clasificación y detección, pudiendo llegar a las presentadas en la secciones 2.2 y 2.3, comprobando también un mejor comportamiento cuando se hace uso de redes de detección individualizadas para cada punto en lugar de una misma red de detección para los 2 puntos de la vista sagital.

3.2 Evaluación en el conjunto de *test*

El conjunto independiente de datos de *test* se compone de 24 *frames* provenientes de 3 pacientes independientes a los del entrenamiento. Tras predecir los puntos de interés mediante la metodología en dos fases anteriormente expuesta, se evaluará la precisión en la detección de los mismos para cada paciente y punto bajo estudio, reportando la distancia media (mm) entre los puntos predichos y reales. Adicionalmente, se reportará también la distancia según el eje largo del corazón (Error(z)) entre los planos predichos y los reales, ya que la distancia entre los planos en esta componente es la que afectará en mayor medida al cómputo de parámetros derivados funcionales.

Paciente	Error [mm]	Error (z) [mm]	Punto	Error [mm]
#1	7,26	1,52	#1 (sagital)	6,41
#2	16,39	11,43	#2 (sagital)	7,22
#3	5,46	1,48	#3 (coronal)	5,43
Media	9,70	4,81	Media	9,70
(std)	(5,17)	(4,98)	(std)	(5,17)

Tabla 1. Resultados de la evaluación del conjunto de *test*.
Izquierda: precisión por paciente bajo estudio. Derecha: precisión por punto bajo estudio.

Como se desprende en los resultados presentados en la Tabla 1, se puede observar cierta variabilidad en el rendimiento del esquema de procesamiento presentado en función de los distintos pacientes. En los pacientes primero y tercero, se obtiene un error en la componente transversal inferior a 2mm. Sin embargo, se comete un error de 11,43mm en el segundo caso. Esto es debido a que este paciente en concreto presentaba una anatomía compleja y diferente en relación a los datos de entrenamiento, siendo por tanto más compleja la detección de los puntos. Por otro lado, si se analiza la detección de cada punto por separado, se observa que el mayor error se obtiene durante la localización de los puntos correspondientes a la vista sagital (puntos 1 y 2), aspecto que se tendrá en cuenta de cara a futuras mejoras, ya que un error en localización de los puntos conllevará un fallo en la localización del plano valvular mitral.

Por otro lado, cabe destacar que medidas cuantitativas de error de la distancia global entre los puntos predichos y etiquetados manualmente pueden no corresponder con la medida de precisión en la localización del plano valvular, ya que un mismo plano puede estar definido por cualquiera de los infinitos puntos que lo contienen. Para un mayor análisis, y aparte del cálculo de la distancia de los planos según el eje largo del corazón (Error(z) en la Tabla 1), se ha llevado a cabo una evaluación visual de los resultados obtenidos por la herramienta propuesta. Estos resultados se muestran en la Figura 3, donde se muestran 4 *frames* de los 3 pacientes de test incluyendo la segmentación y reconstrucción tridimensional del ventrículo izquierdo, aurícula izquierda y aorta de los *frames*, junto con los planos localizados manualmente (azul) y el estimado por la herramienta (verde).

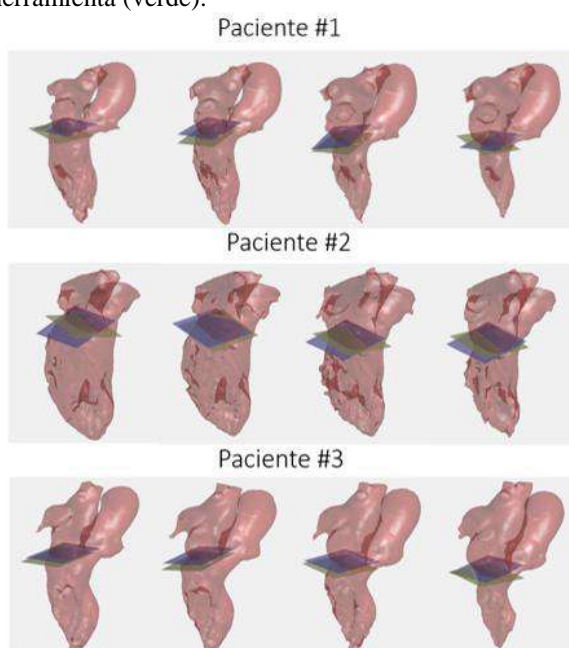


Figura 3. Resultados visuales de la predicción del plano mitral. Azul: Plano definido manualmente, verde: plano estimado a través de la herramienta propuesta.

En este caso, los resultados cuantitativos de error concuerdan con los resultados visuales, ya que los pacientes #1 y #3 con menor error son los que, visualmente, tienen una mejor detección del plano. Cabe destacar también que en aquellos casos donde falla la detección de un solo punto, la orientación del plano se convierte en errónea. Esto sobre todo ocurre en la localización de los puntos del plano sagital, donde normalmente se comete un mayor error, provocando un desplazamiento indeseado en la detección del plano. Los resultados fallidos obtenidos en el paciente de test #2 se pueden asumir a la diferente morfología y anatomía del corazón respecto a los datos de entrenamiento. Queda por tanto también destacada la necesidad de llevar a cabo un entrenamiento de la herramienta propuesta con un número mayor de datos, para poder recoger la mayor variabilidad anatómica posible. Aun así, los resultados son prometedores debido a que en la mayoría de los casos localiza la posición del plano correctamente con un error inferior a 2mm.

4. Conclusiones

Este trabajo propone un método basado en Redes Neuronales Convolucionales (CNN) para la detección automática del plano valvular mitral a partir de imágenes de CT cardíaco dinámico. Para abordar este problema, se propone localizar de forma automática tres de las intersecciones de los velos de la válvula mitral, que a su vez definirán el plano valvular. En cuanto a la resolución de esta localización del plano, se ha abordado el problema en dos fases diferenciadas, por un lado, la detección de aquellos planos óptimos para llevar a cabo la detección de los puntos de interés, y por otro, dado estos planos, la detección en si misma de los puntos. Para ello se han implementado y definido dos Redes Neuronales Convolucionales (CNN) específicas para la clasificación de las vistas óptimas y regresión de las coordenadas de los puntos bajo estudio.

Ambas CNN propuestas han sido entrenadas, optimizadas y validadas mediante una técnica de validación cruzada de 9 iteraciones, utilizando 72 *frames* provenientes de 9 pacientes diferentes. Por otro lado, la herramienta propuesta ha sido evaluada en un conjunto de *test* independiente en 24 *frames* de 3 pacientes diferentes, obteniendo resultados prometedores en la tarea de la localización automática del plano valvular mitral dado una secuencia dinámica de CT cardíaco. Para mitigar los posibles errores de la herramienta presentada, se propone también re-entrenar los algoritmos propuestos con un mayor número de imágenes para poder así contar con mayor variabilidad en la base de datos de entrenamiento y poder minimizar el error en la localización del plano valvular mitral en aquellos casos con anatomía compleja. También se propone el uso conjunto de CNN y Redes Neuronales Recurrentes (RNN) para incorporar conocimiento espacio-temporal en la localización del plano y para la extensión de la misma a los *frames* de diástole a partir de la detección en los *frames* de sístole. Las dependencias espaciales quedarán modeladas por las CNN, mientras que las dependencias temporales de la posición de los puntos bajo estudio serán capturadas por las RNN, pudiendo llegar así a resultados más precisos.

Referencias

- [1] V. Bertomeo, et al. Situación de la enfermedad cardiovascular en España. Del riesgo a la enfermedad. *Revista Española de Cardiología*, Vol. 8, Núm. Supl. E, pp 2-9, 2008.
- [2] Y. Bengia, et al. Advances in optimizing recurrent network. *International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (IEEE)*, pp 8624-8628, 2013.
- [3] Y. Yao, et al. On early stopping in gradient descent learning. *Constructive Approximation*, Vol. 26, pp 285-312, 2005.
- [4] C. Cortes, et al. L2 Regularization for Learning Kernels. *Conference on Uncertainty in Artificial Intelligence (UAI)*, Montreal, Quebec, 2009.
- [5] N. S. S. S. Dropout: A Simple Way to Prevent Neural Networks from Overfitting. *Journal of Machine Learning*, pp, 1929-1958, 2011.

e-Salud/Bioinformática I

Miércoles, 21 de noviembre

Extracción de datos mediante procesamiento de lenguaje natural en terapias de adicción a cocaína

J. Tapia-Galisteo¹, J.M. Iniesta-Chamorro¹, C. Pérez-Gandía^{1,2}, G. García-Saez¹, A. Campos-Blanco¹, D. Urgeles³, F.J. Izquierdo⁴, M.E. Hernando^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina (GBT), Centro de Tecnología Biomédica, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, {jtapia, jminiesta, cperez, ggarcia, acampos, elena}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER, Madrid, España

³ Servicio de Psiquiatría. Responsable de I+D+I. Nuestra Señora de la Paz, Madrid, España, diego.urgeles@sjd.es

⁴ Natural Language Processing expert. IBM Analytics, Madrid, Spain, fizquierdo@es.ibm.com

Resumen

Un rasgo común de los programas de rehabilitación de pacientes con adicción a la cocaína es una alta tasa de abandonos. El éxito del tratamiento está fuertemente ligado a la adherencia al mismo y el abandono se convierte en un grave problema para los sistemas sanitarios, debido principalmente a que implica un gran consumo de recursos especializados, que son costosos y con largas listas de espera. Por otro lado, la información de la que se dispone en este tipo de recursos sanitarios suele carecer de una estructura apropiada para el análisis al encontrarse en informes o documentos de texto libre. El objetivo del trabajo descrito en este artículo es utilizar técnicas de procesamiento del lenguaje natural (PLN) para extraer el conocimiento no estructurado procedente de los informes de derivación de los pacientes, permitiendo generar una base de datos estructurada sobre la que se puedan cimentar los futuros desarrollos. Este trabajo se enmarca en el contexto del proyecto PROTheOS, cuya motivación de investigación es crear un sistema de ayuda a la decisión para la planificación de las redes terapéuticas en adicción a la cocaína mediante el desarrollo de modelos predictivos. Para crear y entrenar el módulo PLN se han utilizado 103 informes de derivación, mientras que para la validación se han utilizado 20, de los cuales se extraen hasta 94 variables o características por informe. Se han comparado los resultados del módulo frente a la extracción manual, obteniendo un porcentaje de discrepancia del 5,22% en el conjunto de entrenamiento y del 6,21% en el conjunto de validación, lo que se observa como un hallazgo positivo y permite concluir que este módulo PLN es útil para la extracción automática de información en el contexto bajo estudio.

1. Introducción

El tratamiento de personas que sufren adicciones al alcohol, cannabis, heroína, cocaína y otras sustancias implica un gran consumo de recursos sociosanitarios y 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].

El caso concreto del consumo de cocaína tiene una tendencia creciente en España y, tras el cannabis, es la segunda sustancia psicotrópica más consumida en el mundo.

Existen redes terapéuticas de rehabilitación con unidades especializadas para reducir o eliminar la adicción a través de tratamientos ambulatorios (el paciente no pernocta en el

centro) y tratamientos residenciales (el paciente pernocta en unidades de hospitalización).

La Comunidad de Madrid (CAM) dispone de una red de recursos de tratamiento ambulatorio denominados Centros de Atención Integral a Drogodependientes (CAIDs) que realizan una valoración interdisciplinar del paciente y un abordaje integral del tratamiento incluyendo aspectos sanitarios, psicológicos, farmacológicos, familiares, sociales y ocupacionales [2].

Así mismo la red de la CAM cuenta con recursos residenciales dirigidos a situaciones de mayor gravedad, que están 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 de la CAM se encuentra el Centro de Atención Integral al Cocainómano (CAIC). La solicitud de ingreso al CAIC requiere la cumplimentación de un informe de derivación por parte de los profesionales responsables del paciente en el CAID donde previamente fue tratado. En los diferentes apartados del informe se registran datos personales del paciente e históricos relativos al problema referido. Un equipo especializado analiza el informe y aprueba o no la derivación.

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, mientras que el 27% restante abandona el tratamiento antes de finalizarlo.

La gestión de datos en formato texto poco estructurado ralentiza y dificulta su análisis por parte del personal de la CAM e impide que se pueda organizar la información y explotar todo el conocimiento disponible.

Este trabajo se realiza en el marco del proyecto PROTheOS (Prediction of therapeutic optimal strategies in mental health), que surgió en 2016 como colaboración entre la Universidad Politécnica de Madrid, la Clínica Nuestra Señora de la Paz de la Orden Hospitalaria San Juan de Dios y la empresa tecnológica IBM. El objetivo general del

proyecto PROTheOS es generar una herramienta de ayuda a la decisión que optimice las estrategias terapéuticas y los recursos disponibles en una red regional de adicciones.

Como punto de partida, se utilizó un conjunto de 103 informes de derivación de pacientes para los que se solicitó el ingreso al CAIC entre agosto del 2014 y diciembre del 2016. De los informes de derivación se extrajeron manualmente un conjunto de 94 características objetivas, algunas de ellas ya relacionadas en diversos estudios previos con la adhesión al tratamiento [3,4], mientras que otras adicionales fueron definidas por el personal clínico en base a los datos presentes en los informes. La extracción de características se realizó inicialmente de forma manual por parte del personal del proyecto y se generó una base de datos estructurada.

La extracción manual de las variables de los informes es una tarea muy costosa y es susceptible de que haya diferencias en función de la persona que la realiza al existir interpretaciones subjetivas de algunos aspectos.

En los últimos tiempos se ha producido un gran avance en las técnicas de procesamiento del lenguaje natural (PLN) [5], entendida como la capacidad de los sistemas informáticos para procesar el texto escrito o grabado en un idioma utilizado para la comunicación humana. La tarea del PLN es transformar el contenido no estructurado de un corpus de información en una base de conocimiento significativa.

El objetivo del trabajo descrito en este artículo consiste en la automatización del proceso de extracción de las variables previamente extraídas de manera manual por el personal investigador. Para dicha extracción automática se plantea el uso de técnicas de PLN.

Este desarrollo supondría un importante ahorro en tiempo y permitiría obtener una base de datos con el histórico de todos los pacientes tratados en el CAIC, lo suficientemente sólida y extensa con la que implementar, en sucesivos trabajos, un modelo predictivo capaz de estimar la probabilidad de éxito del tratamiento.

2. Materiales y Métodos

2.1. Muestra

En total se han utilizado 123 informes de derivación. Como conjunto de entrenamiento se ha utilizado el conjunto de 103 informes inicial, de los que se dispone de una base de datos resultado de la extracción manual de variables.

Como conjunto de test se han utilizado 20 informes de derivación adicionales que no han sido tenidos en cuenta para la creación, entrenamiento y depuración del módulo de extracción automático.

2.2. Estructura de los informes

El informe de derivación empleado consiste en un documento tipo Word (.doc ó .docx) de entre 10 y 15 páginas, estructurado en 8 secciones: *Datos de identificación, Identificación de la demanda, Tratamiento farmacológico actual, Citas de seguimiento pendientes, Objetivos de la derivación, Situación actual, Antecedentes y Pruebas complementarias.*

Estos apartados comprenden un conjunto de tablas y campos de texto libre que recogen la información referente a dicho epígrafe. En el caso de las tablas existe una leyenda que codifica las diferentes opciones a rellenar. De toda esta información se seleccionó un conjunto de variables objetivo a extraer por cada sección y por cada droga de consumo, que pueden observarse en la *Tabla 1*.

<i>Secciones</i>	<i>N.º variables</i>
Datos personales	9
<i>Sexo</i>	1
<i>Código RAD</i>	1
<i>Edad</i>	1
<i>Año de nacimiento</i>	1
<i>Nacionalidad</i>	1
<i>EEAG</i>	1
<i>IMC</i>	1
<i>Frecuencia Cardíaca</i>	1
<i>VIH</i>	1
Medicación	14
<i>Psicofármacos</i>	1
<i>Tipo de psicofármaco (estabilizador, sedante, etc.)</i>	12
<i>No psicofármacos</i>	1
Sustancias de consumo	62
<i>Cocaína (Edad inicio cocaína, vía de consumo cocaína, etc.)</i>	13
<i>Heroína (Edad inicio heroína, vía de consumo heroína, etc.)</i>	13
<i>Cannabis (Edad inicio cannabis, vía de consumo cannabis, etc.)</i>	13
<i>Tabaco (Edad inicio tabaco, vía de consumo tabaco, etc.)</i>	11
<i>Alcohol (Edad inicio alcohol, vía de consumo alcohol, etc.)</i>	11
<i>Otras sustancias</i>	1
Tratamientos previos	9
<i>Centro</i>	1
<i>Año pide ayuda por 1ª vez</i>	1
<i>N.º tratamientos previos (residencial, ambulat., etc.)</i>	4
<i>Tiempo de estancia (máximo y total)</i>	2
<i>Tiempo de abstinencia</i>	1
Variables totales	94

Tabla 1. Variables objetivo

2.3. Creación del módulo PLN

Como herramientas para el uso del PLN se han utilizado el lenguaje de programación Python [6] y el kit de librerías Natural Language Toolkit ó NLTK [7].

El módulo de extracción automática de la información desarrollado sigue una serie de pasos reflejados en la *Figura 1*. En primera instancia, se extraen las tablas de los

informes en formato .docx mediante librerías Python, para posteriormente ser estructuradas en matrices ordenadas denominadas *dataframes*. Estos *dataframes* sufren un preprocesamiento que permite la corrección y/o estandarización de los valores obtenidos, necesario para una correcta interpretación de la información y, dejando como último paso la exportación de dichos valores al formato deseado (Excel/BDD).

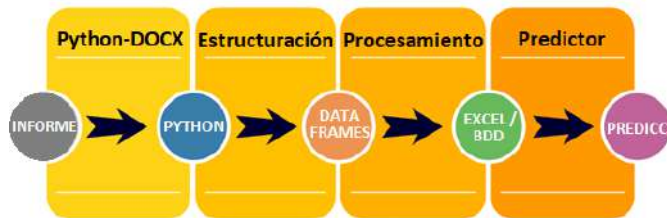


Figura 1. Procesamiento de documentos

La parte de preprocesamiento incluye varios aspectos bien diferenciados. Por un lado, se encuentran las variables más simples contenidas en las tablas, las cuales deben ajustarse al formato prefijado en la leyenda original de los documentos, de forma que puedan usarse posteriormente de manera estandarizada.

Por otro lado, aparecen las variables contenidas en los campos de texto libre de longitud variable, pudiendo aparecer estas o no en función del documento en concreto. A modo de ejemplo, en la Figura 2, se ilustra el procedimiento de extracción para un caso concreto de la identificación de la edad de comienzo de consumo de cocaína:

“Consume cocaína desde los 18 años, manteniendo consumo hasta la actualidad. En aquel momento refería sentirse solo y en una situación difícil relacionada con la situación económica de...”

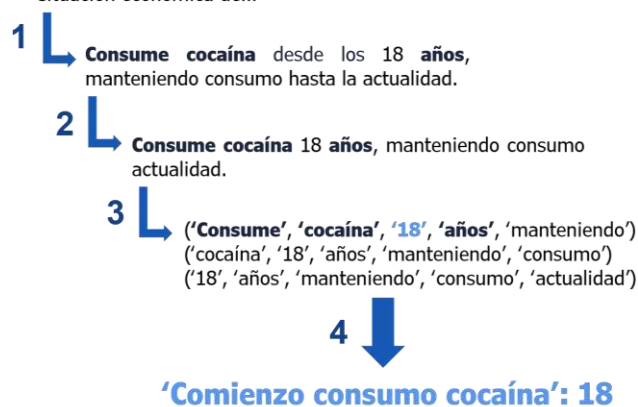


Figura 2. Procedimiento extracción de variables

1. Filtrado de frases que componen el texto en base a una serie de palabras clave, permitiendo acotar la búsqueda y reduciendo el número de frases a analizar.
2. En las frases seleccionadas se realiza de nuevo un filtrado de las denominadas *stopwords* o palabras vacías, es decir, aquellas sin significado propio (artículos, pronombres o preposiciones).

3. En este punto se realizan agrupaciones mediante n-gramas, obteniéndose subsecuencias de n elementos de la secuencia dada, en este caso n=5.
4. Sobre estos n-gramas se realiza una búsqueda de pares de valores, que contengan palabras clave y el valor de la variable que se pretende obtener.

2.4. Metodología de validación

Una vez creado el módulo de PLN se realiza una comparación objetiva de las diferencias encontradas con el método de extracción manual. Esto facilita la identificación de errores y permite conocer con exactitud el porcentaje de discrepancias o desviaciones del módulo automático frente al manual para cada una de las características.

Para ello se realiza una comparación entre ambas extracciones, característica por característica, tomando como criterio que el módulo de extracción automático:

1. acierta cuando ambas extracciones proporcionan exactamente el mismo resultado para una característica concreta y,
2. falla cuando existe cualquier diferencia, por pequeña que sea, entre ambos resultados.

En este punto se realiza también una comparativa entre los tiempos de extracción de ambas metodologías.

Posteriormente, una vez generado el módulo y alcanzado un nivel de precisión aceptable, se ha utilizado un conjunto de test que permita validar el módulo. Con este nuevo conjunto se realizó una nueva extracción mediante ambos métodos, manual y automática, con el fin de comparar el nivel de precisión ante un conjunto nuevo.

3. Resultados

3.1. Módulo de extracción automática

La discrepancia obtenida, entre el procesamiento manual y el automático, en cada una de las secciones y sus variables objetivo correspondientes queda desglosado en la Tabla 2.

Secciones	N.º var.	N.º datos	Discrepancias	%
Personales	9	927	18	1,94%
Sexo	1	103	2	1,94%
Código RAD	1	103	0	0%
Edad	1	103	3	2,91%
Año nac.	1	103	1	1,94%
Nacionalidad	1	103	3	2,91%
EEAG	1	103	2	1,94%
IMC	1	103	3	2,91%
Frec. Card.	1	103	0	0%
VIH	1	103	4	3,88%
Medicación	14	1442	11	0,76%
Psicofármac.	1	103	5	4,85%
Tipo psicof.	12	1236	5	0,4%
No psicof.	1	103	1	0,97%

Sustancias	62	6386	373	5,84%
Cocaína	13	1339	120	8,96%
Heroína	13	1339	32	2,39%
Cannabis	13	1339	79	5,9%
Tabaco	11	1133	25	2,21%
Alcohol	11	1133	104	9,18%
Otras	1	103	13	12,62%
Ttos. previos	9	927	103	11,10%
Centro	1	103	1	0,97%
Año 1ª ayuda	1	103	22	21,36%
Nº ttos. Prev.	4	412	22	5,34%
Tpo. estancia	2	206	29	14,08%
Tpo. Abstin.	1	103	29	28,16%
Variables totales	94	9682	505	5,22%

Tabla 2. Discrepancia por variable objetivo

Realizando una comparativa global entre los datos extraídos manualmente y de manera automática se ha obtenido una tasa de discrepancia del 5,22%, difiriendo en 505 de los 9682 datos extraídos en total de los 103 informes.

De esta discrepancia total, los apartados que han contribuido con un mayor porcentaje han sido: *Cocaína* (23,76%), *Alcohol* (20,59%), *Cannabis* (15,64%), *Heroína* (6,34%), *Tiempo de estancia* (5,74%), *Tiempo de abstinencia* (5,74%), *Tabaco* (4,95%) respectivamente, como puede verse en la *Figura 3*.

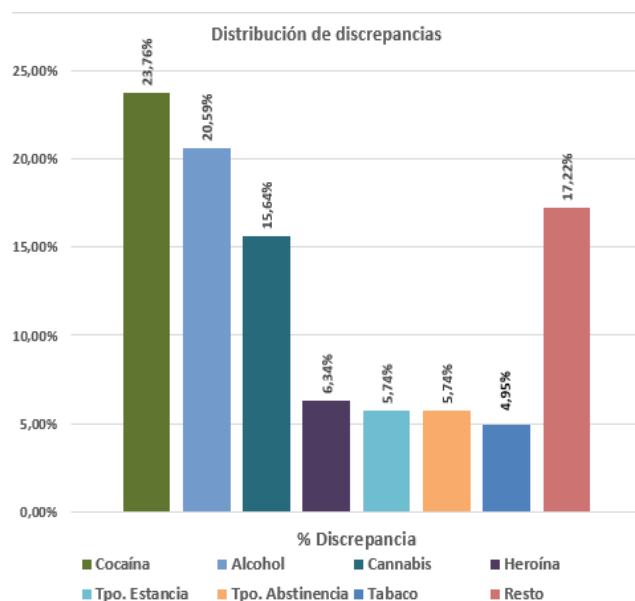


Figura 3. Variables con mayor porcentaje de discrepancia

El tiempo empleado por el módulo para la extracción de un informe individual oscila entre los 0.89 y los 1.12 segundos, dependiendo de la cantidad de información contenida en el informe en concreto, mientras que el tiempo total empleado para la extracción de los 103 informes es de 65 segundos. Esto contrasta notablemente

con el tiempo empleado en la extracción manual, la cual consume en torno a 20-30 minutos por informe.

3.2. Validación del módulo de extracción automática

Los resultados de validación con el conjunto de test muestran que el módulo de extracción automática obtuvo una tasa de discrepancia del 6,21% con respecto a la extracción manual, es decir, un 1% superior a la obtenida en el conjunto de entrenamiento (5,22%).

4. Discusión

El módulo PLN de extracción automática desarrollado ha sido validado y permite el procesamiento de los informes de derivación con un porcentaje de discrepancia de en torno al 5-6%, lo que supone un alto grado de precisión.

La velocidad de procesamiento del módulo supera en varios órdenes de magnitud el procesamiento humano y supone una de sus principales utilidades, permitiendo un considerable ahorro en el coste horas-hombre y en la cantidad de información estructurada obtenida.

Algunas de estas variables individualmente contribuyen en mayor medida al porcentaje global de discrepancia, por lo que la importancia relativa de las mismas en el sistema predictivo será objetivo de estudio en futuros trabajos.

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos demuestran que es posible realizar la extracción automática de los datos mediante PLN con un bajo margen de discrepancia, permitiendo generar una base de datos históricos estructurada y un importante ahorro en tiempo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por IBM en el marco del proyecto PROTheOS (<http://protheos.org/>) y el consorcio CIBER, en el marco del proyecto INT2CARE.

Referencias

- [1] Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (2016), Informe Europeo sobre Drogas 2016: Tendencias y novedades, Oficina de Publicaciones de la UE, Luxemburgo.
- [2] Web de Madrid Salud (Ayuntamiento de Madrid). <http://madridsalud.es/centros-de-atencion-adrogo-dependencias-cad/> (Sept-2017)
- [3] Sánchez-Hervás E et al. Abandono del tratamiento en adictos a la cocaína. *Adicciones*, vol 22 (1), 2010, pp 59-64.
- [4] Domínguez-Martín AL et al. Estudio de las causas de abandono en un centro de atención a drogo-dependientes. *Trastornos adictivos*, vol 10 (2), 2008, pp 112-120.
- [5] Thanaki J. *Python Natural Language Processing*. Packt Publishing; 2017.
- [6] Lutz M. *Learning Python: Powerful Object-Oriented Programming*. O'Reilly; 2003.
- [7] Bird S, Klein E, Loper E. *Natural Language Processing With Python*. 1st ed. O'Reilly; 2011.
- [8] Web de IBM SPSS Modeler. <https://www.ibm.com/es-es/marketplace/spss-modeler> (Sept-2017).

Desarrollo de una Herramienta para la Identificación de Pacientes Crónicos Complejos Utilizando Métodos Estadísticos y Algoritmos de Aprendizaje Automático

J. Díaz Carnicero¹, D. Vivas Consuelo¹, A. Zlotnik¹, R. Usó Talamantes²

¹ Centro de Investigación en Economía y Gestión de la Salud, INECO, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, jadiacar@etsii.upv.es

² Departamento de Salud Clínico-Malvarrosa

Resumen

Los pacientes crónicos complejos son un pequeño porcentaje de la población caracterizada por presentar unas necesidades de atención especialmente elevadas y dificultad para su gestión. Su correcta identificación permitiría mejorar la atención que se les presta y su calidad de vida. El objetivo de este trabajo es analizar la información de los pacientes asignados a un departamento de salud de la Comunidad Valenciana en el año 2015, referente al ámbito clínico y consumo de recursos, y también de tipo socio-económico. Se ensayan tres sistemas de clasificación (random forest, regresión logística y red neuronal), evaluando los resultados en medidas de exactitud, precisión, sensibilidad, especificidad, estadístico-F, coeficiente de correlación de Matthews y área bajo la curva ROC. El algoritmo random forest y la red neuronal ofrecen muy buenos resultados con información de tipo clínico, pero el primero destaca especialmente al incluir variables socio-económicas. Este modelo se programa en una interfaz desarrollada en MATLAB, a modo de prueba de concepto, que permite obtener la probabilidad de que un paciente sea crónico complejo al introducir las variables.

1. Introducción

Los fenómenos de aumento de la cronicidad y envejecimiento de la población están afectando al Sistema Nacional de Salud, incrementando la demanda de servicios. En este nuevo contexto, resultan importantes los estudios poblacionales que permitan una mejor gestión de los recursos, con el fin de prestar una correcta atención al ciudadano y repercutiendo positivamente en su calidad de vida.

Dentro de los pacientes crónicos encontramos el conjunto de los denominados crónicos complejos, con una dificultad especial para su gestión y atención por parte de los profesionales sanitarios. Aunque se caracterizan por un consumo de recursos especialmente elevado, el concepto también está ligado a las condiciones sociales y económicas, en ocasiones difíciles de valorar por parte de estos profesionales [1].

En la actualidad el sistema de clasificación de los pacientes crónicos complejos se basa exclusivamente en el nivel de morbilidad del paciente, situando su prevalencia entorno al 4% según estudios [2]. No obstante, este criterio no es compartido por todos los

profesionales sanitarios, que consideran en ocasiones que el número real es menor.

Un fallo en la identificación de estos pacientes tendría repercusiones tanto para los estos, que no recibirían una atención sanitaria ajustada a sus necesidades; como para el Sistema Nacional de Salud, que necesita de una gestión eficiente de sus recursos. Esto hace necesario el desarrollo de un sistema de clasificación avanzado, que integre información clínica y socioeconómica, y se adapte al criterio experto con el objetivo de incrementar la precisión de la clasificación.

2. Metodología

Para este trabajo se dispone de información acerca de 98.465 pacientes asignados a un Departamento de Salud en el año 2015, clasificados con un nivel superior a cuatro en el sistema de ajuste de riesgo *Clinical Risk Groups* [1]. Para cada sujeto se dispone de información demográfica (edad y sexo), clínica (índice de morbilidad, número de contactos ambulatorios, número de urgencias, número de ingresos, número de problemas relacionados con los medicamentos e importe de gasto farmacéutico) y socio-económica (zona básica de salud, situación de empadronamiento, nacionalidad, financiación de cobertura sanitaria, situación de residencia, migraciones, actividad laboral, grupos de aseguramiento, conjunto geopolítico, unidad residencial, régimen de aportación de farmacia e índice de exclusión social). Además, se dispone de una etiqueta indicando si el paciente es o no crónico complejo, marcada por profesionales sanitarios de forma manual en base al conocimiento experto y acerca del paciente.

En primer lugar, se realizó un estudio descriptivo de las variables disponibles, para evaluar su relación y realizar una selección para su introducción en los algoritmos de clasificación. Los clasificadores elegidos son:

- *Random forest*: modelo ensamblado formado por una serie de árboles de decisión, en los cuales se plantean una serie de reglas de discriminación aplicadas secuencialmente hasta lograr la clasificación. En esta ocasión se emplean 10 árboles con *bootstrap*, límite de 512 nodos y ordenación determinista.

- Regresión logística: clasificador estadístico que busca la combinación de variables que permita establecer una frontera entre datos que separe las categorías de los mismos, estudiando las probabilidades condicionales de las clases.
- Red neuronal: clasificador más complejo, formado por una serie de perceptrones unidos en una secuencia de capas, que mediante un conjunto de pesos en las entradas y una función de activación consigue la clasificación. En esta ocasión se toma una capa oculta y algoritmo ADAM.

La evaluación de los modelos se realizará atendiendo a los resultados en exactitud, precisión, sensibilidad, especificidad, estadístico-F, coeficiente de correlación de Matthews y área bajo la curva ROC. El mejor modelo obtenido será finalmente implementado en una herramienta que permita su uso por los profesionales.

Se ensayarán dos modelos diferentes, uno incluyendo las variables demográficas y clínicas (6 variables numéricas y 3 categóricas), y un segundo incorporando además las variables socio-económicas (6 variables numéricas y 16 categóricas). Cada uno de ellos será entrenado con los tres sistemas de clasificación antes comentados, separando los conjuntos de *train* y *test* con una proporción 70%-30%.

3. Resultados

3.1. Análisis de las Variables

El estudio descriptivo de las variables clínicas muestra una fuerte relación con el estado de salud, y especialmente con el nivel de gravedad del paciente. Del mismo modo, se puede apreciar un desequilibrio en el consumo de recursos: los grupos con mayor morbilidad son los minoritarios en número, pero los que mayor gasto por paciente producen. En la Figura 1 podemos apreciar estas diferencias aplicadas al gasto farmacéutico.

En cuanto a su relación con la etiqueta de Paciente Crónico Complejo, utilizando un algoritmo de detección de asociaciones se obtiene que las variables más relevantes son el número de ingresos, de urgencias y de problemas relacionados con los medicamentos.

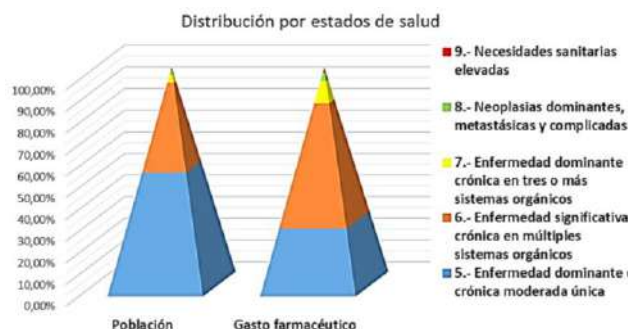


Figura 1. Representación gráfica de la distribución de la población y el gasto farmacéutico en función del estado de salud

Las variables socio-económicas muestran diferencias por zona básica de salud. El Departamento de Salud ofrece cobertura sanitaria a áreas muy diferenciadas, tanto rurales como urbanas, que dan origen a esta heterogeneidad. Al analizar la relación con el Paciente Crónico Complejo, se comprueba que el índice de exclusión social, la situación geográfica y el régimen de aportación de farmacia son las variables más relacionadas.

3.2. Evaluación de Modelos

Ambos modelos son evaluados en función de las métricas antes descritas, y sus resultados quedan reflejados en la Tabla 1. Los valores obtenidos de exactitud y especificidad son muy elevados, pero este resultado se debe interpretar en el contexto de la naturaleza de los datos de estudio: como anteriormente se comentaba, el conjunto de los Pacientes Crónicos Complejos supone un pequeño porcentaje de la población. Dentro del conjunto de pacientes incorporado al estudio, sólo un 2,97% aparecen marcados con clase positiva por los expertos. Esto implica que, aunque el algoritmo clasificara sistemáticamente a los pacientes como no crónicos complejos, acertaría en el 97,1% de las ocasiones.

Atendiendo a los valores de precisión y sensibilidad, se pueden apreciar mayores diferencias entre los resultados de cada sistema de clasificación. En todos los casos, la regresión logística es la que presenta menores valores, con una sensibilidad inferior al 55%. Tanto el *random forest* como la red neuronal obtienen valores elevados para el primer modelo, pero se puede observar cómo la precisión desciende significativamente en la red neuronal

Modelo 1	Exactitud	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Estadístico-F	Coef. Matthews	AUROC
Random forest	0,9991	1,0000	0,9688	1,0000	0,9842	0,9838	0,9975
Regresión	0,9804	0,7446	0,5423	0,9942	0,6276	0,6260	0,9848
Red Neuronal	0,9919	0,8733	0,8597	0,9961	0,8664	0,8623	0,9950
Modelo 2	Exactitud	Precisión	Sensibilidad	Especificidad	Estadístico-F	Coef. Matthews	AUROC
Random forest	0,9989	0,9954	0,9677	0,9999	0,9814	0,9809	0,9987
Regresión	0,9804	0,7439	0,5434	0,9941	0,6281	0,6263	0,9849
Red Neuronal	0,9700	0,5044	0,8252	0,9746	0,6261	0,6316	0,9849

Tabla 1. Resultados de la evaluación de los diferentes sistemas entrenados

Figura 2. Visualización de la interfaz gráfica al iniciar el programa

al incluir las variables socio-económicas. Se puede comprobar también cómo repercute este descenso tanto en el estadístico-F, media armónica de precisión y sensibilidad, como en el coeficiente de correlación de Matthews.

Los valores de área bajo la curva ROC son muy elevados en todos los casos, en gran parte debido a los altos valores de especificidad antes comentados. Con la inclusión de las variables socio-económicas se aprecia un descenso en el caso de la red neuronal, y un muy ligero incremento para el *random forest*.

3.3. Implementación del Modelo

Tras analizar los resultados obtenidos con los distintos clasificadores, se opta por el algoritmo *random forest*, al demostrar mejor rendimiento en todas las métricas de evaluación. Además, resulta sencillo de entender e intuitivo, lo que puede considerarse un valor añadido a la hora de trasladar la herramienta al uso por parte de profesionales sanitarios. Dado que las diferencias entre ambos modelos ensayados resultan escasas para ese clasificador, se incluirán ambos modelos en la herramienta. De esta forma se podrá obtener una clasificación aunque no se disponga de todas las variables sociales, en ocasiones de difícil acceso rápido por parte de los profesionales.

La herramienta se implementa como prueba de concepto en una interfaz gráfica desarrollada en MATLAB. Consta de una serie de campos numéricos y desplegable para las variables categóricas donde introducir la información acerca de este paciente, cuya probabilidad de ser o no crónico complejo se mostrará en la parte derecha. El sistema está dotado de un sistema que alerta al usuario en caso de que exista cualquier problema con la introducción de variables o el cálculo, y adicionalmente permite guardar los resultados de forma local.

4. Conclusiones

La correcta identificación de los llamados pacientes crónicos complejos resulta de importancia dentro del ámbito de la gestión clínica, para realizar una correcta asignación de recursos. Los sistemas de clasificación y algoritmos de aprendizaje automático pueden ser utilizados para llevar a cabo la clasificación.

El algoritmo *random forest* ha demostrado ser la mejor forma de clasificación, especialmente al incluir las variables socio-económicas. No obstante, las variables clínicas y de consumo de recursos, muy relacionadas con

el estado de salud del paciente, dominan en cuanto a explicación aportada.

La herramienta desarrollada se adapta al criterio de los profesionales sanitarios, incorporando variables clínicas de consumo de recursos, y por primera vez también de tipo social. La interfaz ha sido diseñada pensando en la simpleza de aspecto y facilidad de uso.

Para mejorar los resultados de clasificación y extender la utilidad de la herramienta se requeriría incorporar a pacientes del resto de Departamentos de Salud, y también la evolución temporal de los mismos, para poder evaluar los cambios que pudieran resultar importantes para valorar el desarrollo en la cronicidad. Además, el objetivo último sería integrar el clasificador en los sistemas de información, incorporando una alerta de cronicidad en la historia clínica de los pacientes. De esta forma, los datos se analizarían directamente a partir de las variables registradas, evitando la transcripción manual por parte del profesional sanitario.

Referencias

- [1] Generalitat de Catalunya (2016). Bases para un modelo catalán de atención a las personas con necesidades complejas: Conceptualización e introducción a los elementos operativos.
- [2] Consellería de Sanidad (2014). Estrategia para la atención a pacientes crónicos en la Comunitat Valenciana.
- [3] D. Vivas-Consuelo, R. Usó-Talamantes, N. Guadalajara-Olmeda, J.-L. Trillo-Mata, C. Sancho-Mestre, and L. Buigues-Pastor (2014). Pharmaceutical cost management in an ambulatory setting using a risk adjustment tool. *BMC health services research*, vol. 14, no. 1, p. 462.
- [4] Brandon Lin, M.-I., Groves, W. A., Freivalds, A., Gyung Lee, E., & Harper, M. (2011). Comparison of artificial neural network (ANN) and partial least squares (PLS) regression models for predicting respiratory ventilation: An exploratory study. *Arbeitphysiologie*, 112, 1603-16011.
- [5] Fuster i García, E. (2017). Fundamentos de los Sistemas de Ayuda a la Decisión Basados en Datos Biomédicos: Métodos de Aprendizaje.
- [6] Kumar, N., Khatri, S. (2017). Implementing WEKA for medical data classification and early disease prediction. *IEEE-CICT 2017*
- [7] Saeys, Y., Inza, I., Larrañaga, P. (2007). A review of feature selection techniques in bioinformatics. *Bioinformatics*, 23,19,2507-2517.

Análisis de correspondencias para el estudio de la sensibilidad antibiótica de gérmenes en la UCI

J. Lérída-García¹, S. Martínez-Agüero¹, J. Álvarez-Rodríguez², I. Mora-Jiménez¹, C. Soguero-Ruiz¹

Resumen—Las infecciones nosocomiales son aquéllas que se producen durante la estancia de un individuo en un centro de atención sanitaria, pudiendo manifestarse tanto en la propia estancia como inmediatamente después de ella. Este tipo de infecciones constituyen un problema muy serio para la salud pública, no sólo por el aspecto social sino también por el económico. La importancia de estas infecciones está aumentando debido a la resistencia de algunos gérmenes a determinadas familias de antibióticos, siendo aún más relevante en la Unidad de Cuidados Intensivos debido al estado de salud de los pacientes. En este trabajo se propone el uso de análisis de correspondencias para mostrar de forma gráfica e interpretable en un espacio bidimensional la relación existente entre tres tipos de gérmenes, a saber, *pseudomonas*, *stentrophomonas* y *staphylococcus aureus*, y su resistencia/multirresistencia a diez familias de antibióticos.

I. INTRODUCCIÓN

El incremento de las infecciones nosocomiales (IN) se presenta como uno de los mayores retos a solucionar desde los hospitales, especialmente en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), donde la gravedad de los pacientes dificulta más la situación [1], [2]. Las IN son aquellas infecciones que no están presentes en el paciente en el momento del ingreso, y que ocurren tras las primeras 48 horas posteriores al ingreso y hasta 48 horas después del alta del paciente. Tienen relación con las prácticas asistenciales y pruebas realizadas durante la estancia. Pese a los esfuerzos de las entidades responsables y el personal sanitario para reducir los riesgos de contagio, se estima que para el año 2050 las muertes provocadas por IN superarán a las provocadas por cáncer [3].

La UCI se convierte en un entorno especialmente favorable para la aparición y el contagio masivo de gérmenes, debido fundamentalmente al estado de salud de los pacientes y al aumento de la resistencia de dichos gérmenes a determinados antibióticos. Se estima que entre el 12% y el 42% de los pacientes ingresados en la UCI adquieren una IN durante su estancia [4].

Especialmente relevante es la multirresistencia (MR), esto es, la capacidad de un germen para sobrevivir a distintas familias de antibióticos a las que, de manera natural, debería ser sensible [6]. Es por ello por lo que es importante realizar un análisis de las causas de aparición de los gérmenes MR con el objetivo de reducir su número y su efecto sobre los

pacientes. El análisis de la resistencia simple de un germen a un determinado antibiótico es el paso previo para estudiar la MR. En este trabajo se propone el uso de una técnica descriptiva de análisis de datos (análisis de correspondencias, (AC) [5]) para estudiar la resistencia de los gérmenes a distintas familias de antibióticos, utilizando para ello los datos presentes en los antibiogramas recopilados en la UCI del Hospital Universitario de Fuenlabrada (HUF).

La estructura del trabajo es la siguiente. En la Sección II se describe la metodología seguida, mientras que en la Sección III y la Sección IV se presentan los datos utilizados y los resultados obtenidos, respectivamente. Las conclusiones y líneas de trabajo futuras se muestran en la Sección V.

II. METODOLOGÍA

El AC es un método estadístico descriptivo utilizado para realizar el análisis exploratorio de las variables categóricas de un conjunto de N ejemplos u observaciones. Permite visualizar las categorías de las variables en un espacio bidimensional, y a partir de esta representación encontrar relaciones entre dichas categorías. Aunque el AC no es el único método que posee estas ventajas, el conjunto de datos utilizado presenta la restricción de que las variables estudiadas son categóricas, por lo que quedan descartadas otras técnicas como el Análisis de Componentes Principales (PCA) [8].

El AC se denomina simple cuando son dos las variables estudiadas [7], y para su obtención se hace uso de una tabla de contingencia: las categorías de una variable aparecen en filas y las categorías de la otra variable se representan en las columnas. Los valores de las celdas de la tabla de contingencia indican la frecuencia absoluta de aparición conjunta de las correspondientes categorías. En el Cuadro I se muestra un ejemplo de tabla de contingencia para dos variables x (3 categorías) e y (3 categorías). Tras construir la tabla de contingencia, ésta se normaliza dividiendo cada celda entre el número total de observaciones (N). A continuación, aplicando la Ec.(1) se obtiene la frecuencia esperada normalizada de cada celda, siendo F_i y C_j las frecuencias marginales por fila y columna, respectivamente.

$$f_{esp,ij} = \frac{F_i n_{ij} C_j}{N} \quad (1)$$

El resto del procedimiento se corresponde con el mencionado en [9], realizando un contraste de hipótesis para determinar la validez de la hipótesis nula (existe relación lineal entre las variables).

En este trabajo se utiliza AC para analizar la relación entre gérmenes encontrados en los cultivos realizados a pacientes

¹Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones y Sistemas Telemáticos y Computación, Universidad Rey Juan Carlos, Fuenlabrada, Madrid, España

²Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Universitario de Fuenlabrada (HUF), Fuenlabrada, Madrid, España.

$x \backslash y$	y_1	y_2	y_3	Total F.
x_1	n_{11}	n_{12}	n_{13}	F1
x_2	n_{21}	n_{22}	n_{23}	F2
x_3	n_{31}	n_{32}	n_{33}	F3
Total C.	C1	C2	C3	N

Cuadro I: Ejemplo de tabla de contingencia. Las filas y columnas corresponden a las categorías x_i e y_j , $i = 1, 2, 3$ de las variables x e y . El valor de cada celda, n_{ij} , corresponde a la frecuencia absoluta de aparición simultánea de las categorías x_i e y_j .

Familia	Acrónimos
Aminoglucósidos	AMG
Cefalosporinas de primera generación	CF1
Cefalosporinas de segunda generación	CF2
Cefalosporinas de tercera generación	CF3
Cefalosporinas de cuarta generación	CF4
Penicilinas	PEN
Penicilinas de amplio espectro	PAP
Quinolonas	QUI
Tetraciclinas	TTC
Carbapenémicos	CAR

Cuadro II: Familias de antibióticos consideradas y acrónimos correspondientes.

ingresados en la UCI y la familia del antibiótico testado en el cultivo. En el Cuadro II y el Cuadro III se muestran las familias de antibióticos y gérmenes estudiados, respectivamente. Cada cultivo positivo tiene asociado un antibiograma, el cual muestra los resultados específicos de sensibilidad de cada germen encontrado al antibiótico correspondiente.

Así, en primer lugar, analizaremos los casos de resistencia simple del germen a todos los antibióticos testados. En segundo lugar, usaremos la información sobre resistencia simple para marcar como multiresistentes algunos cultivos, teniendo en cuenta para ello las condiciones de MR de cada germen. En el Cuadro III se muestra el criterio que debe cumplir cada germen para ser considerado multiresistente y, por tanto, marcar todo el cultivo como tal.

III. BASE DE DATOS

Los datos analizados proceden del laboratorio de microbiología de la UCI del HUF, y han sido recopilados entre 2013 y 2016 (ambos inclusive). No se consideran cultivos realizados fuera del periodo de estancia del paciente en la UCI. Concretamente, sólo se han seleccionado los cultivos realizados después de las 48h del ingreso del paciente y hasta dos días después del alta al paciente. De esta forma nos aseguramos que los casos positivos considerados en el análisis corresponden realmente a infecciones contraídas en la estancia

Germen	MR
<i>Pseudomonas</i>	Resistente a tres ó más familias entre AMG, CF4, PAP, CAR, QUI o POL
<i>Staphylococcus aureus</i>	Resistente a la Oxacilina (PEN)
<i>Stenotrophomonas</i>	Si aparece en el cultivo

Cuadro III: Gérmenes de interés y criterio aplicado para marcar un cultivo como MR ante la presencia de dicho germen.

en la UCI. Se consideran hasta 48 horas después del alta del paciente para evitar perder casos de IN que hayan tenido un periodo más largo de incubación.

A continuación se muestra un breve resumen del conjunto de datos analizados:

- Cultivos realizados entre los años 2013 y 2016.
- Cultivos totales: 6853 cultivos, de los cuales 252 están marcados como MR.
- Pacientes analizados: 607, de los cuales 371 son hombres y 236 mujeres.
- Edad media de los pacientes: 61 años.
- Duración media de la estancia: 9 días.

En la Fig. 1 (a) se muestra la frecuencia de aparición de los tres gérmenes (*pseudomonas*, *staphylococcus* y *stenotrophomonas*) en el total de cultivos, así como en el número de cultivos identificados como MR. Se puede observar que las *stenotrophomonas* son MR sólo con aparecer, por lo que el 100 % de los cultivos son MR. La Fig. 1 (b) muestra el número de cultivos según la familia del antibiótico suministrado al paciente si el cultivo era positivo en la presencia de los gérmenes anteriores.

Para realizar el primer estudio de AC (resistencia simple), se han seleccionando los cultivos con presencia de algún germen de interés, independientemente del resultado. Para el segundo estudio de AC (MR), se han considerado aquellos cultivos MR en los que hubiese al menos uno de los gérmenes de interés.

IV. RESULTADOS

Los Cuadros IV y V muestran las tablas de contingencia correspondientes al análisis de resistencia simple y de multiresistencia, respectivamente. Un cultivo puede contener varios gérmenes a la vez, donde a cada uno se le aplica una serie de antibióticos, por lo que es normal que el total obtenido en las tablas de contingencias sea superior al total de cultivos realizados. Se puede apreciar que la presencia de cultivos con *pseudomonas* es muy superior a la del resto de gérmenes.

Las Figs. 2 y 3 muestran los resultados obtenidos tras aplicar el AC cuando se consideran cultivos con resistencia simple y con MR, respectivamente. Los resultados obtenidos indican una gran relación entre los gérmenes *pseudomonas* y *stenotrophomonas* con las siguientes familias de antibióticos: *cefalosporinas* (CF), *penicilinas de amplio espectro* (PAP), *carbapenémicos* (CAR) y *aminoglucósidos* (AMG). Todas las categorías se sitúan en el gráfico bidimensional del AC muy cerca del centro de gravedad (origen de coordenadas), indicando que existe mayor relación lineal entre categorías.

Por otro lado, los *staphylococcus aureus* presentan mayor relación con las penicilinas (PEN), y muy poca con el resto de familias de antibióticos. Tanto para el AC de resistencia simple como de MR, las tetraciclinas (TTC) se encuentran muy alejadas del resto de categorías. Además, las TTC corresponden a la categoría más alejada del centro de gravedad, por lo que podemos intuir que no existe relación lineal entre esa familia y la resistencia de los gérmenes estudiados.

Los resultados obtenidos del AC son muy similares para el caso de resistencia simple y MR, por lo que se puede concluir que no existe diferencia estadística significativa en las

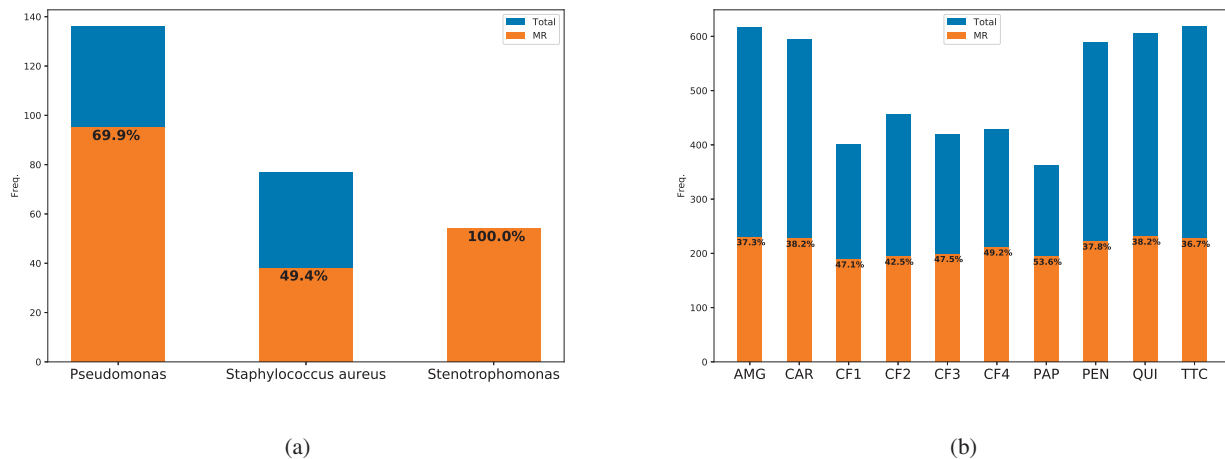


Figura 1: (a) Diagrama de barras del número de cultivos totales y cultivos con MR con presencia de (*pseudomonas*, *staphylococcus* y *stenotrophomonas*). (b) Diagrama de barras del número de cultivos según la familia del antibiótico suministrado al paciente.

Germen \ Familia	AMG	CAR	CF1	CF2	CF3	CF4	PAP	PEN	QUI	TTC	Total
<i>Pseudomonas</i>	175	260	192	97	104	65	61	97	131	231	1413
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	28	0	6	0	0	0	66	23	5	146
<i>Stenotrophomonas</i>	121	126	69	37	43	41	41	37	27	27	569
Total	314	414	261	140	147	106	102	200	181	263	2128

Cuadro IV: Tabla de contingencia para el AC con resistencia simple. Las celdas indentifican el número de cultivos para los que cada germen (fila) ha sido resistente a cada familia de antibióticos (columna).

Germen \ Familia	AMG	CAR	CF1	CF2	CF3	CF4	PAP	PEN	QUI	TTC	Total
<i>Pseudomonas</i>	171	242	161	81	86	64	60	81	127	195	1268
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	27	0	6	0	0	0	49	22	2	118
<i>Stenotrophomonas</i>	121	126	69	37	43	41	41	37	27	27	569
Total	304	395	230	124	129	105	101	167	176	224	1955

Cuadro V: Tabla de contingencia para el AC con MR. Las celdas indentifican el número de cultivos para los que cada germen (fila) ha sido resistente a cada familia de antibióticos (columna).

relaciones lineales entre gérmenes y resistencia/MR a familias de antibióticos.

V. CONCLUSIONES

En este trabajo se ha realizado un estudio basado en AC para visualizar en un espacio bidimensional la relación lineal entre la capacidad de resistencia y la capacidad de MR de un germen a los efectos de diez familias de antibióticos suministrados.

Se ha determinado la relación lineal entre la capacidad de resistencia antibiótica de los gérmenes *pseudomonas* y *stenotrophomonas*; y varias familias de antibióticos (cefalosporinas, penicilinas de amplio espectro, carbapenémicos y aminoglucósidos).

A pesar de ser una técnica de análisis exploratorio, el AC permite obtener información muy útil para aplicar posteriormente técnicas de *machine learning* al conjunto de datos. Por ejemplo, los estudios realizados en [10], utilizando un conjunto de datos similares, utilizaron técnicas de aprendizaje supervisado de *machine learning* para predecir

la probabilidad de contraer una IN en la UCI del HUF.

Por último, como líneas futuras de investigación, se propone incluir en el AC más gérmenes y/o familias de antibióticos para aumentar la información obtenida sobre la sensibilidad antibiótica de gérmenes en la UCI. Por otro lado, se explorarán distintas técnicas de visualización más avanzadas utilizando métodos de *machine learning*.

VI. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos nacionales TEC2016-75361-R y DTS17/00158, así como por la red de excelencia TIN2017-90567-REDT.

REFERENCIAS

- [1] T. Salazar González, D. Morejón Carbonell, T. Alonso Díaz, J.L. Ayala Pérez, M. López Palomares, B. Castillo López. "Gérmenes nosocomiales más frecuentes en la unidad de terapia intensiva". *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias* [serie en Internet], 5(1), 2008.

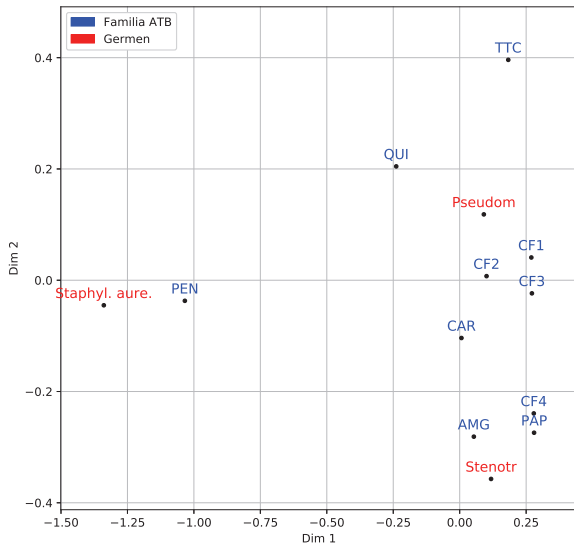


Figura 2: Resultado del AC considerando los cultivos con resistencia simple.

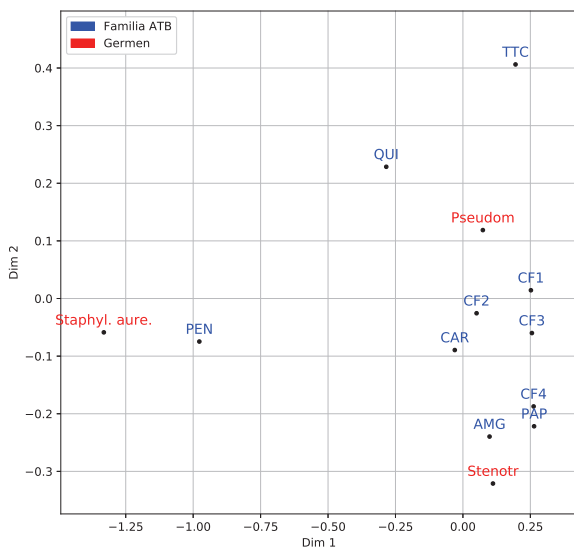


Figura 3: Resultado del AC considerando los cultivos marcados como MR.

cine, 18(1), S3-S9, 1992.

[5] M. Greenacre. "Correspondence analysis in practice". *Chapman and Hall/CRC*, 2017.

[6] J. D. Siegel, E. Rhinehart, M. Jackson, L. Chiarello. "Management of multidrug-resistant organisms in health care settings". *American journal of infection control*, 35(10), S165-S193, 2006

[7] Santiago de la Fuente Fernández, Análisis de Correspondencias, *Universidad Autónoma de Madrid*, 2011

[8] A. Maćkiewicz, W. Ratajczak. "Principal components analysis (PCA)", *Computers and Geosciences*, 19(3), 1993.

[9] O. Nenadic, M. Greenacre. "Correspondence analysis in R, with two- and three-dimensional graphics: The ca package". *Journal of statistical software*, 20(3), 2007.

[10] P. Revuelta-Zamorano, A. Sánchez, J.L. Rojo-Álvarez, J. Álvarez-Rodríguez, J. Ramos-López, C. Soguero-Ruiz. "Prediction of Healthcare Associated Infections in an Intensive Care Unit Using Machine Learning and Big Data Tools". In *XIV Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing*. IFMBE Proceedings, 57, Springer, Paphos, Cyprus, 2016.

Modelo multicriterio para la optimización del mantenimiento en los sistemas de respiración asistida de neonatología

M. C. Carnero Moya¹, A. Gómez Blanco²

¹ Departamento de Administración de Empresas, Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real, España, carmen.carnero@uclm.es

² SERMAS, Madrid, España, andres.gomez@uclm.es

Resumen

Las decisiones de mantenimiento asistencial desempeñan un papel fundamental en la consecución de la disponibilidad, calidad y seguridad del servicio asistencial prestado. Sin embargo, a pesar de su trascendencia, hay una carencia muy relevante de modelos que faciliten la optimización de las decisiones de mantenimiento en equipos asistenciales críticos. En esta contribución se desarrolla un modelo innovador que combina las cadenas de Markov en tiempo continuo, junto con la técnica Measuring Attractiveness by a Categorical Based Evaluation Technique (MACBETH) para la selección de la combinación idónea de políticas de mantenimiento junto con otras acciones de mejora, a aplicar en los sistemas de respiración asistida del Servicio de Neonatología de un Hospital.

1. Introducción

Las políticas de mantenimiento se pueden definir como un conjunto de acciones administrativas, técnicas y de gestión a aplicar durante el ciclo de vida de maquinaria e instalaciones para guiar las decisiones de mantenimiento hacia la consecución de ciertas condiciones operativas o devolver el equipamiento a dichas condiciones al coste óptimo [1]. Existen diferentes políticas de mantenimiento, desde las clásicas mantenimiento correctivo, preventivo y predictivo, hasta mantenimiento centrado en la fiabilidad, mantenimiento proactivo, mantenimiento productivo total, etc.

La selección de la política de mantenimiento es una decisión compleja, ya que deben analizarse aspectos técnicos, junto con cuestiones organizativas, medioambientales, económicas, de seguridad y estratégicas. Esta decisión afecta a la disponibilidad de máquinas e instalaciones, seguridad de planta y personal, calidad del producto o servicio y costes de mantenimiento. Por tanto, hay que tener en cuenta diferentes criterios tanto cuantitativos como cualitativos, que suelen encontrarse en conflicto, para tomar esta decisión, por lo que la utilización de técnicas de decisión multicriterio resulta idónea [2].

A pesar de su trascendencia para una organización, no hay muchas investigaciones que analicen la selección de políticas de mantenimiento [3]. Entre la literatura que analiza la selección de políticas de mantenimiento mediante técnicas multicriterio se puede destacar [4-6], que en todos los casos emplean *Analytic Hierarchy Process* (AHP) para seleccionar la política de mantenimiento idónea en diferentes tipologías de plantas

industriales. Otros autores combinan diferentes técnicas multicriterio con el mismo objetivo, por ejemplo [7-9] combinan AHP y *Technique for Order Preference by Similarity to Ideal Solution* (TOPSIS), mientras que en [10] se emplean AHP, TOPSIS, compromise ranking method (VIKOR) y análisis coste-beneficio o, en [11] se aplica *Analytic Network Process* (ANP). La inclusión del medio borroso se aprecia en las contribuciones de Wang et al. [3] que aplican AHP borroso al igual que Azadeh y Abdolhossein [12] y Ghosh y Roy [13] que lo integran junto con un modelo de programación por objetivos.

La mayor parte de las anteriores contribuciones selecciona una única política de mantenimiento entre las opciones posibles. Sin embargo, las organizaciones en su aplicación real, integran varias políticas de mantenimiento por lo que los modelos desarrollados pierden grado de aplicabilidad. Además, en todas las contribuciones anteriores, la decisión se aplica a empresas de manufactura, plantas de proceso, transporte, etc.; sin embargo, la cantidad de investigaciones que analizan la selección de políticas de mantenimiento en organizaciones de servicios y, en particular, en organizaciones sanitarias es prácticamente inexistente, pudiéndose destacar las investigaciones de Taghipour et al. [14] y Carnero y Gómez [15] en este ámbito. Eso supone una grave problemática ya que la influencia que tiene el mantenimiento de instalaciones y dispositivos médicos sobre el tiempo y calidad de prestación de los servicios asistenciales para diagnósticos y tratamientos y, por tanto, sobre la vida de los pacientes es determinante.

Esta investigación muestra un modelo innovador para la selección de la combinación idónea de políticas de mantenimiento junto con otras acciones de mejora, a aplicar en el sistema de respiración asistida de un hospital. Este modelo combina cadenas de Markov en tiempo continuo con la técnica multicriterio *Measuring Attractiveness by a Categorical Based Evaluation Technique* (MACBETH). Este modelo podría aplicarse a otros sistemas hospitalarios, particularizándose el modelo de Markov y las posibles políticas de mantenimiento y otras acciones de mejora específicas a cada caso.

Este artículo está estructurado como se expone a continuación. En primer lugar se presenta el modelo multicriterio, describiéndose en primer lugar la aplicación de cadenas de Markov al sistema analizado y, a

función de valor por cada atributo. En la Figura 3 se muestra la matriz de juicios y la función de valor del criterio Costes de mantenimiento. En la matriz de juicios por filas y columnas se muestran los niveles de escala del descriptor siendo 10,000€ el nivel de referencia bueno y 20,000€ el neutro. Similar proceso se ha efectuado con todos los atributos.

	1000	1500	2000	2500	3000
1000	(no mod fuerte fuerte - mfuertemfuerte)				
1500		(no mod fuerte mfuerte)			
2000			(no mod fuerte)		
2500				(no mod no)	
3000					(no mod no)

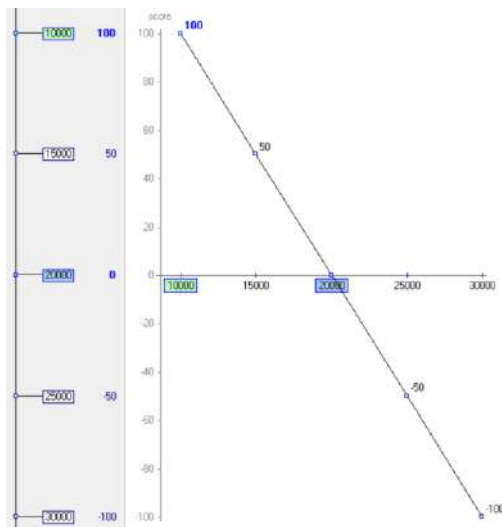


Figura 3. Matriz de juicios MACBETH y función de valor del criterio Costes de Mantenimiento

Para obtener las ponderaciones de los criterios, se evaluó la posibilidad de una alternativa que se encontrase en el nivel neutro en todos los criterios. Se solicitó al grupo decisor juicios, empleándose las categorías semánticas MACBETH, que evaluase el incremento en atractivo global proporcionado por un cambio desde el nivel neutro al nivel de impacto más atractivo, en cada uno de los atributos contemplados. A continuación el grupo emitió un juicio cualitativo sobre cuánto es más preferible el cambio del nivel neutro al nivel bueno en el primer criterio con respecto a similar cambio en el segundo criterio y así sucesivamente. La matriz de juicios y las ponderaciones resultantes w_i , se muestran en la ecuación (3).

	CA	CM	CI	AP	w_i
CA	(no débil - mod mod mod - fuerte)				0,4375
CM		(no mod no mod)			0,2500
CI			(no débil - mod)		0,2500
AP				(no mod no)	0,0625

(3)

A partir de los resultados obtenidos del grafo de Markov se contemplan las siguientes alternativas:

- Mantenimiento correctivo y preventivo (MC+MP). El mantenimiento correctivo se lleva a cabo en dos niveles: por el personal asistencial antes de cada

intervención y por el servicio técnico oficial. Además, se efectúa una revisión preventiva anual contratada con el servicio técnico oficial.

- Mantenimiento correctivo y preventivo más un respirador de reserva (MC+MP+1RR). Esta alternativa tiene el alcance de la anterior, más la posibilidad de disponer de un respirador de reserva inmediatamente en perfectas condiciones, incluido en el plan de mantenimiento correctivo y preventivo.
- Mantenimiento correctivo y preventivo más dos respiradores de reserva (MC+MP+2RR). Esta alternativa tiene el alcance de la anterior pero incluyendo dos respiradores de reserva.
- Mantenimiento correctivo y preventivo más tres respiradores de reserva (MC+MP+3RR). Esta alternativa tiene el alcance de la anterior pero incluye tres respiradores de reserva.

3. Resultados

La valoración $V(x)$ de una alternativa x si se están considerando n criterios de decisión se calcula a partir de la ecuación (4) [17].

$$V(x) = \sum_{i=1}^n w_i v_i(x) \quad (4)$$

con $\sum_{i=1}^n w_i = 1$, $w_i > 0$ y $\begin{cases} v_i(\text{bueno}) = 100 \\ v_i(\text{neutro}) = 0 \end{cases}$. Siendo w_i las ponderaciones de los criterios y $v_i(x)$ es la valoración de x en el criterio i .

Para evaluar las alternativas en el criterio Calidad asistencial, es necesario conocer la disponibilidad media del sistema para cada alternativa. Los datos históricos del HGUCR muestran que $\lambda_1 = 0,000217$ fallos/hora y $\mu_1 = 0,010$ reparaciones/hora. Por tanto, la disponibilidad media de cada alternativa es $D_{0m} = 0,9969$, $D_{1m} = 0,9997$, $D_{2m} = 1$ y $D_{3m} = 1$.

Efectuando la valoración de cada alternativa en cada criterio y aplicando la ecuación (4) se obtiene la clasificación de alternativas siguiente:

$$\begin{aligned} V(\text{MC+MP+1RR}) &= 0,4375 * 100 + 0,25 * 65 + 0,25 * 66,67 + 0,0625 * 0 = 76,67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(\text{MC+MP+2RR}) &= 0,4375 * 100 + 0,25 * 50 + 0,25 * 33,33 + 0,0625 * 40 = 67,08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(\text{MC+MP+3RR}) &= 0,4375 * 100 + 0,25 * 35 + 0,25 * 0 + 0,0625 * 100 = 58,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(\text{MC+MP}) &= 0,4375 * -60 + 0,25 * 80 + 0,25 * 100 + 0,0625 * -80 = 13,75 \end{aligned}$$

Por tanto, el modelo recomienda aplicar MC+MP+1RR.

A continuación se efectuó un análisis de sensibilidad para evaluar las implicaciones que tendría sobre la clasificación de alternativas una modificación lógica de las ponderaciones de los criterios de decisión. Los resultados mostraron que el modelo es robusto.

En la actualidad el Hospital está aplicando mantenimiento correctivo junto con mantenimiento preventivo, por lo que la disponibilidad media actual es 0,9969. Por el contrario con la aplicación de MC+MP+IRR la disponibilidad media sería 1, obtenida de la resolución del sistema de ecuaciones resultantes del grafo de Markov que se muestra en la Figura 1. La alternativa actual supone unos costes de mantenimiento de 12,000€/año; cambiar a MC+MP+IRR supone que el coste de mantenimiento sería de 13,500€/año más 2,500€ en costes de inversión. Sin embargo, este pequeño incremento en costes se ve compensado con las implicaciones funcionales sobre la calidad asistencial que tendría el cambio de alternativa. Por tanto, desde el punto de vista gerencial, se asignó una criticidad 1 (la más elevada) para efectuar los cambios propuestos por el modelo y, se establecieron 15 días como el tiempo necesario para desarrollar la implantación de la nueva alternativa. El grado de éxito esperable se considera elevado.

4. Conclusiones

A pesar de su trascendencia para la prestación del servicio asistencial de calidad, la cantidad de investigaciones que analizan la selección de políticas de mantenimiento en organizaciones sanitarias es muy escasa. Por tanto, en esta contribución se describe un modelo innovador que integra las cadenas de Markov en tiempo continuo con la técnica MACBETH para obtener la combinación idónea de políticas de mantenimiento a aplicar en sistema de respiración asistida del servicio de Neonatología de un Hospital.

En la construcción del modelo ha participado un grupo decisor multidisciplinar, constituido por responsables de diferentes áreas pertenecientes a los Servicios Técnicos y Asistenciales del Hospital. De esta forma se pretende garantizar la aplicabilidad de los resultados obtenidos con el modelo.

Debe destacarse que en las alternativas evaluadas además de combinarse diferentes políticas de mantenimiento, se incorporan posibles mejoras, como la incorporación de equipos de reserva adicionales. Por tanto, las alternativas planteadas en esta investigación proporcionan soluciones reales al problema planteado.

El modelo propuesto es un modelo dinámico aplicado en condiciones reales hospitalarias pero que debe revisarse transcurrido un cierto periodo de tiempo con criterios o alternativas adicionales.

Referencias

- [1] Carnero MC. MCDA Techniques in Maintenance Policy Selection. In J. Wang, (Ed.), *Encyclopedia of Business Analytics and Optimization*, Volume III, (pp. 406-415). Hershey, PA: IGI Global, 2014.
- [2] Martorell S, Villanueva JF, Carlos S, Nebot Y, Sanchez A, Pitarch JL, Serradell V. RAMS+C informed decision-making with application to multiobjective optimization of technical specifications and maintenance using genetic algorithms, *Reliability Engineering and System Safety*, vol 87, no 1, 2005, pp 65-75.
- [3] Wang L, Chu J, Wu J. Selection of optimum maintenance strategies based on a fuzzy analytic hierarchy process. *International Journal of Production Economics*, vol 107, 2007, pp 151-163.
- [4] Bevilacqua M, Braglia M. The analytic hierarchy process applied to maintenance strategy selection, *Reliability Engineering and System Safety*, vol 70, 2000, pp 71-83.
- [5] Emblemvag J, Tonning L. Decision support in selecting maintenance organization, *Journal of Quality in Maintenance Engineering*, vol 9, no 1, 2003, pp 11-24.
- [6] Bertolini M, Bevilacqua M. A combined goal programming-AHP approach to maintenance selection problem. *Reliability Engineering and System Safety*, vol 91, 2006, pp 839-848.
- [7] Shyjith K, Ilangkumaran M, Kumanan S. Multi-criteria decision-making approach to evaluate optimum maintenance strategy in textile industry. *Journal of Quality in Maintenance Engineering*, vol 14, no 4, 2008, pp 375-386.
- [8] Ilangkumaran M, Kumanan S. Selection of maintenance policy for textile industry using hybrid multi-criteria decision making approach. *Journal of Manufacturing Technology Management*, vol 20, no 7, 2009, pp 1009-1022.
- [9] Özcan EC, Ünlüsoy S, Eren T. A combined goal programming – AHP approach supported with TOPSIS for maintenance strategy selection in hydroelectric power plants, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol 78, 2017, pp 1410-1423.
- [10] Ahmadi A, Gupta S, Karim R, Kumar U. Selection of maintenance strategy for aircraft systems using multi-criteria decision making methodologies. *International Journal of Reliability, Quality and Safety Engineering*, vol 17, no 3, 2010, pp 223-243.
- [11] Shahin A, Shirouyehzad H, Pourjavad, E. Optimum maintenance strategy: A case study in the mining industry. *International Journal of Services and Operations Management*, vol 12, no 3, 2012, pp 368-386.
- [12] Azadeh A, Abdolhossein S. An integrated fuzzy analytic hierarchy process and fuzzy multiple-criteria decision-making simulation approach for maintenance policy selection, *Simulation*, vol 92, no 1, 2016, pp 3-18.
- [13] Ghosh D, Roy S. A decision-making framework for process plant maintenance, *European Journal of Industrial Engineering*, vol 4, no 1, 2010, pp 78-98.
- [14] Taghipour S, Banjevic D, Jardine AKS. Prioritization of medical equipment for maintenance decisions, *Journal of the Operational Research Society*, vol. 62, 2011, pp 1666-1687.
- [15] Carnero MC, Gómez A. A multicriteria decision making approach applied to improving maintenance policies in healthcare organizations. *BMC Medical Informatics and Decision Making*, 2016, doi:10.1186/s12911-016-0282-7.
- [16] Taha HA. *Operations research. An introduction*. New York, NY: Prentice Hall, 2011.
- [17] Bana e Costa CA, Vansnick JC. Applications of the MACBETH approach in the framework of an additive aggregation model. *Journal of Multi-Criteria Decision Analysis*, vol 6, 1997, pp 107-114.

e-Salud/Bioinformática II

Miércoles, 21 de noviembre

Promoción de la actividad física en personas mayores mediante las nuevas tecnologías: prueba de concepto

F.M. Esteban Gómez¹, J. L. Moyano-Cuevas¹, F. Sánchez Margallo², N. Vaquero³, F. Blanco³, C. Vila-Cha⁴, E. Martinena⁵, Pedro Núñez Trujillo⁵, J. Blas Pagador¹

¹ Bioingeniería y tecnologías sanitarias, Centro de cirugía de mínima invasión Jesús Usón, Cáceres, España, fmesteban@ccmijesususon.com, jlmoyano@ccmijesususon.com, jbpagador@ccmijesususon.com

² Dirección científica, CCMIJU, Cáceres, España, msanchez@ccmijesususon.com

³ Centro de Día Francisco Chanclón, Cáceres, España, noelia.vaquero@salud-juntaex.es, fatimablancobejarano@gmail.com

⁴ Instituto Politécnico de Guarda, Guarda, Portugal, cvilacha@ipg.pt

⁵ RoboLab, Universidad de Extremadura, Cáceres, España, emartinena@unex.es, pnuntru@unex.es

Resumen

El envejecimiento activo implica aspectos físicos, cognitivos y sociales, donde el uso de las nuevas tecnologías puede tener un papel relevante para la motivación y adherencia de las personas mayores, además de ofrecer métricas y datos relevantes para los profesionales sanitarios encargados de promoverlo. En este trabajo, se presentan resultados preliminares de un sistema para promover la actividad física y cognitiva mediante el trabajo del equilibrio. Este sistema consiste en un tablero proyectado en el suelo, donde el mayor interactúa pisando señales con diferente pie según el color de dicha señal mientras mantiene el equilibrio con el otro pie en el centro del tablero. Métricas, como la puntuación y el tiempo, se utilizan para una evaluación objetiva de la actividad y, además, se ha encuestado a los sujetos participantes para comprobar su percepción subjetiva sobre el sistema. Los resultados preliminares obtenidos muestran una puntuación objetiva y una satisfacción de los usuarios altas, expresando los mayores su intención de utilizar el sistema en el futuro.

1. Introducción

Se prevé que la edad media de la población en general aumentará significativamente en los próximos años [1]. A medida que la población de la tercera edad crece en edad y en volumen, aumenta el riesgo de que estas personas ingresen en clínicas y hospitales ya sobrecargados. La tecnología tiene un gran potencial para el fomento del envejecimiento activo (como el ejercicio físico, la detección de caídas y la reducción del riesgo de caídas). Se espera que aumente la demanda de métodos tecnológicamente avanzados para el cuidado de las personas mayores, con acceso local o remoto y tanto para uso privado en el hogar como público en residencias, proporcionando instrucciones de rehabilitación y seguimiento del progreso.

Los cambios físicos que acompañan al envejecimiento afectan a una amplia gama de funciones, incluyendo los procesos sensoriales-perceptuales, las habilidades motoras, la velocidad de respuesta y los procesos cognitivos [2]. La investigación sobre la eficacia de los juegos serios para retener y rehabilitar las habilidades funcionales se ha limitado principalmente a estudios cualitativos con tamaños de muestra pequeños y centrándose en una

variedad de controladores y sistemas de sensores inerciales [3]. Esta limitación también se puede ver en la literatura de los juegos serios actuales basados en Microsoft Kinect®, ya que la mayoría de los estudios aún no han ido más allá del diseño y desarrollo inicial del juego.

Según el estudio [4] sobre la tecnología en la actividad física en personas mayores, ésta juega un papel fundamental para mantener su salud física y mental, su calidad de vida y mantener su independencia. La persona no es consciente de la mejora en la actividad física y cognitiva mientras participa en el juego, sin embargo, el juego le genera una sensación de motivación, felicidad y competitividad

Por ello, el objetivo de este trabajo es el desarrollo y validación preliminar de un ejercicio que integra el reconocimiento automático de la posición y movimiento del usuario, así como su agilidad, reflejos, coordinación y equilibrio.

2. Metodología

Diseño del ejercicio

Tras una serie de entrevistas previas con fisioterapeutas y terapeutas ocupacionales con experiencia en el trabajo con mayores, se ha implementado un ejercicio para la estimulación física y cognitiva de los mismos. Éste consiste en un tablero virtual de 9 cuadrículas sobre el que el mayor tiene que realizar una secuencia de pasos similar a un baile. El objetivo principal es trabajar el equilibrio, para lo cual el usuario mantendrá una pierna en el centro del tablero y moverá la otra hasta la posición iluminada en el mismo (Figura 1). Para facilitar la identificación se ha utilizado un código de colores de manera que si la cuadrícula iluminada es verde tendrá que colocar la pierna izquierda en esa posición y mantener la pierna derecha en el centro. Por el contrario, si la zona que se ilumina es roja, tendrá que mantener fija la pierna izquierda en el centro y desplazar la derecha hasta la cuadrícula iluminada. La secuencia de posiciones es aleatoria pero el sistema controla que en ningún caso puedan iluminarse la misma cuadrícula de manera consecutiva para asegurar el movimiento constante del usuario.

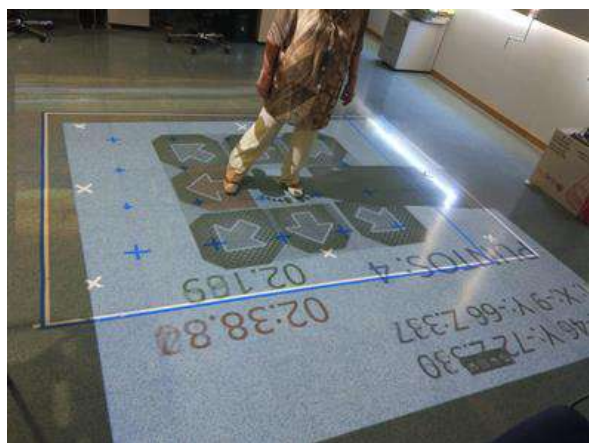


Figura 1. Persona mayor jugando a la actividad de baile.

Para la implementación de este ejercicio se ha diseñado un sistema formado por una cámara 3D (Kinect v1, Microsoft, USA), un proyector de corto alcance (Optoma X305ST, Optoma, UK) y un ordenador (Figura 2). Además, se ha implementado el software capaz de seguir los movimientos de la persona en tiempo real a través de la cámara. Para la calibración de la Kinect se usa una serie de métricas a través de la posición inicial del usuario. Una vez marcado las coordenadas de los pies en el centro de la imagen proyectada, el resto de cuadrículas del tablero se sitúan a una distancia equidistante (50 cm) del punto central. Esa distancia de 50cm es la aconsejada por varios expertos terapeutas ocupacionales. Dicha distancia esta guardada en una variable que puede ser cambiada para subir o bajar tanto la dificultad del ejercicio como el equilibrio y flexibilidad del usuario.



Figura 2. Sistema de baile formado por una cámara Microsoft Kinect (1), un ordenador básico (2), un proyector Optoma X305ST (3) y una zona proyectada en el suelo por el proyector y donde la cámara está enfocada para hacer el tracking (4).

Microsoft Kinect SDK utiliza Mean-Shift. Este algoritmo puede verse, además, como una técnica no paramétrica de agrupación o clustering que no requiere conocimiento previo sobre el número de agrupación a utilizar. Se dice, que es un método robusto ya que no toma en cuenta aquellos puntos fuera de lugar de los datos. El algoritmo opera procesando sólo los puntos que se encuentren dentro

de una ventana local. La idea consiste en estimar el vector de medias que indica el desplazamiento de la ventana hasta converger a la moda (valor con una mayor frecuencia en una distribución de datos) de la distribución.

Para estimar la distribución de los datos, el algoritmo emplea técnicas de estimación de densidad por kernel (núcleo de una función). Por lo general, se utiliza un Kernel Gaussiano para estimar la media ponderada de los puntos vecinos x_i a un punto fijo x dentro de la ventana, con el fin de obtener el vector de desplazamiento que recibe el nombre de MEAN SHIFT.

Como cada usuario es diferente tanto en tamaño y vestimenta (que puedan llevar pantalones anchos, faldas, ...) el algoritmo te encuentra punto medio del pie, y damos un 10% de margen de error en la medición de su posición con respecto al desplazamiento total que queremos que se produzca.

Para poder analizar los datos de una manera objetiva el sistema implementa varias métricas asociadas a la realización. Estas métricas son el tiempo de realización y los errores cometidos durante la realización del ejercicio. El sistema implementa un contador de 3 segundos para cada paso a dar, en caso de que pasen esos tres segundos y el usuario no haya colocado el pie correspondiente sobre la cuadrícula iluminada se contabilizará como un error. La duración del ejercicio está fijada a 1 minuto y 30 segundos correspondiente a la duración de la canción que se reproducirá durante la ejecución de la actividad.

Al finalizar cada sesión todos los datos se envían a una base de datos para su conservación y posterior análisis.

Validación

Un grupo está formado por 4 usuarios con una edad media de 76 años que participaron en la validación preliminar del sistema (2 hombres y 2 mujeres). Para llevar a cabo la validación se diseñó un cuestionario compuesto por varios bloques: demografía, actividad física que realiza y nivel de satisfacción del ejercicio. Dentro del bloque de satisfacción se valoró mediante una escala Likert de 5 puntos (1- valor bajo, 5 valor alto), diferentes cuestiones como la facilidad de uso del sistema, el sistema de interacción con el usuario, interés por el ejercicio.

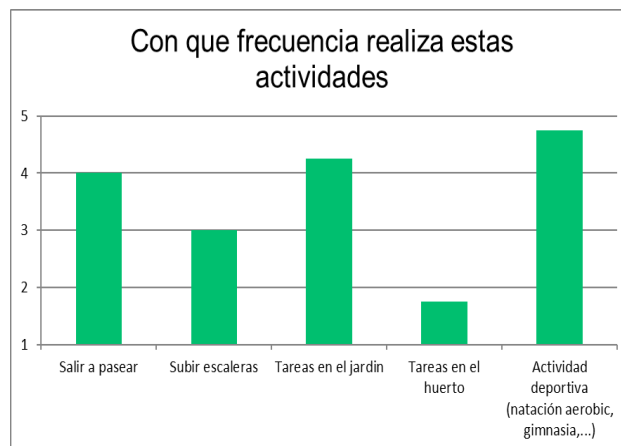


Figura 3. Muestra de la actividad de cada participante

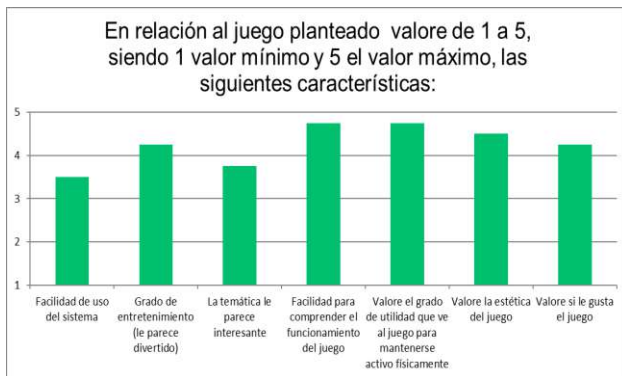


Figura 4. Encuesta sobre la satisfacción de los participantes.

3. Resultados y discusión

La tabla 1 muestra los datos demográficos de los participantes en la validación. La edad media fue de 76 años de edad, siendo la edad mínima de 72 y la máxima de 82. Dos de los 4 participantes poseen estudios universitarios y la mayoría juega con cierta frecuencia (una vez a la semana o más) a videojuegos. Además, todos ellos participan en asociaciones altruistas, se puede observar que el participante (hombre 1) que ha marcado “Nunca” en la frecuencia de jugar a videojuegos haya sido el que mayor puntuación ha obtenido. Esto puede ser debido a que los otros participantes hayan jugados a juegos que requieran menos coordinación y reflejos (adaptados a personas mayores) haciendo que este juego les haya provocado más dificultad por el cambio de entorno y dificultad. Mientras que al usuario que no tiene experiencia en videojuegos haya asimilado mejor la jugabilidad obteniendo mejor puntuación que el resto de las participantes.

Respecto a su condición física, la figura 3 muestra las puntuaciones medias para cada una de las actividades consultadas. El nivel de actividad de los 4 es elevado, realizando la mayoría de ellos actividades deportivas tales como gimnasia, natación, etc. Estos niveles de actividad coinciden con los resultados descritos por otros autores en la bibliografía, la diferencia es que en la mayoría de los estudios la edad suele estar próxima a los 65 años, tal y como se refleja en un artículo similar [5].

Nombre	Edad	Frecuencia
Sexo	Hombre	2
	Mujer	2
Frecuencia en jugar a videojuegos	Nunca	1
	Raramente	
	Una vez al mes	
	Una vez a la semana	2
	Todos los días	1
	No sabe leer escribir	

Nivel de estudios	Estudios Primarios	1
	Estudios secundarios	1
	Estudios Universitarios	2
Con quien vive actualmente	Solo	1
	Con su cónyuge	3
	Con sus hijos	
	Con otros familiares	
Asistencia centros	Hogar de mayores	
	Centro de día	
	Asociación	4

Tabla 1. Tabla de resultados demográficos de los participantes.

El grado de satisfacción con el ejercicio manifestado por los usuarios tras la realización de este se muestra en la figura 4. Todos los aspectos del ejercicio fueron valorados positivamente con una puntuación superior a 3.5 sobre 5. Entre ellos los participantes destacan principalmente la utilidad del ejercicio para mantenerse activo, lo que nos hace pensar que el enfoque de este puede contribuir a promocionar la actividad física, aunque esta opinión debería ser contrastada con la opinión de expertos en el trabajo con mayores. La facilidad para comprender el funcionamiento del juego y la facilidad de uso, así como el grado de entretenimiento obtuvieron valores mayores o iguales a 4 sobre 5. Por ello, pensamos que este sistema de interacción en el que el sistema reconoce la persona puede contribuir a mitigar las barreras descritas en la bibliografía sobre el uso de nuevas tecnologías para la promoción del envejecimiento activo [6]. Además, el plantear un ejercicio atractivo al usuario ha sido ratificado por otros autores como una base para garantizar el éxito de implantación [7]. La temática del baile como base del ejercicio también fue bien acogida por los usuarios. Este resultado coincide con los obtenidos por García-Martin en [8].



Figura 5. Juego proyectado en el suelo con marcación de puntuación (en azul), tiempo restante para el cambio de casilla (en amarillo) y tiempo total transcurrido (en rojo)

Además del cuestionario, las métricas de realización fueron registradas durante el ejercicio. La tabla 2 muestra los resultados tanto de aciertos como de errores para cada uno de los usuarios. La media de aciertos fue de 52.5 ± 11.5 y la de fallos fue 5,5. Dado que un error es contabilizado cuando pasan 3 segundos, este tipo de métricas nos arroja también información sobre lo rápido que han hecho el movimiento, ya que el tiempo de duración del ejercicio es fijo en todos los casos, métricas similares han sido descritas en otros estudios [9].

Nombre	N.º aciertos	N.º fallos
Hombre1	65	4
Mujer1	46	7
Hombre2	40	8
Mujer2	59	3

Tabla 2. Tabla de resultados de los participantes en la actividad.

A la luz de los resultados preliminares obtenidos podemos pensar que el planteamiento del ejercicio tanto en la temática como en el modo de interacción puede ser bien acogido por los mayores y por tanto contribuir a la promoción de un envejecimiento activo. Además, puede suponer la base para el desarrollo de nuevos ejercicios implementando diferentes tipos de bailes y el entrenamiento de diferentes características técnicas. Dado que en esta validación participan únicamente 4 usuarios es necesario ampliar la prueba con más usuarios para confirmar los resultados. Además, también será necesaria una validación con los profesionales para definir niveles de dificultad y modos de adaptación a diferentes usuarios, junto con los criterios de evaluación del entrenamiento tanto físico como cognitivo.

Esta primera versión del sistema no implementa métricas para la evaluación de la actividad física, sólo utiliza los aciertos y errores para mostrar una puntuación que favorezca la jugabilidad y motive a los mayores a mejorar la puntuación en diferentes repeticiones. En trabajos futuros se realizarán esfuerzos para detectar e integrar factores de evaluación de la actividad física. Otra mejora pendiente del sistema es la generación automática de informes que se almacenarán en una nube de forma centralizada.

4. Referencias

- Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW: Ageing populations: the challenges ahead. *Lancet* 2009, 374(9696):1196–1208
- Ijsselstein W, Nap HH, de Kort Y, Poels K: Digital game design for elderly users. In *Proceedings of the 2007 conference on Future Play*: ACM; 2007:17–22.
- John M, Klose S, Kock G, Jendreck M, Feichtinger R, Hennig B, Reithinger N, Kiselev J, Gövercin M, Steinhagen-Thiessen E, Kausch S, Polak M, Irmscher B: Smartsenior's interactive trainer-development of an interactive system for a home-based fall-prevention training for elderly people. In *Ambient Assisted Living*: Springer; 2012:305–316.

- McEwan, T., Tam-Seto, L., & Dogra, S. (2017). Perceptions of Sedentary Behavior among Socially Engaged Older Adults. *Gerontologist*, 57(4), 735–744. <https://doi.org/10.1093/geront/gnv689>
- Forberger, S., Bammann, K., Bauer, J., Boll, S., Bolte, G., Brand, T., ... Zeeb, H. (2017). How to tackle key challenges in the promotion of physical activity among older adults (65+): The AEQUIPA network approach. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph14040379>
- Vaportzis, E., Clausen, M. G., & Gow, A. J. (2017). Older adults perceptions of technology and barriers to interacting with tablet computers: A focus group study. *Frontiers in Psychology*, 8(OCT), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.01687>
- Bethancourt, H. J., Rosenberg, D. E., Beatty, T., & Arterburn, D. E. (2014). Barriers to and Facilitators of Physical Activity Program Use Among Older Adults. *Clinical Medicine & Research*, 12(1–2), 10–20. <https://doi.org/10.3121/cmr.2013.1171>
- Garcia Marin, J., Felix Navarro, K., & Lawrence, E. (2011). Serious Games to Improve the Physical Health of the Elderly: A Categorization Scheme. *International Conference on Advances in Human-Oriented and Personalized Mechanisms, Technologies, and Services, CENTERIC 2011*, (c), 64–71. Retrieved from <http://epress.lib.uts.edu.au/research/handle/10453/19151>
- Rejeski, W.J., Marsh, A.P., Brubaker, P.H., Buman, M., Fielding, R.A., Hire, D., Manini, T., Rego, A., Miller, M.E. Analysis and interpretation of accelerometry data in older adults: The LIFE study (2016) *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 71 (4), pp. 521-528.

Interfaz Cerebro–Ordenador para el Control de las Funcionalidades de un Teléfono Móvil

V. Martínez-Cagigal, E. Santamaría-Vázquez, R. Hornero

Grupo de Ingeniería Biomédica, E.T.S.I. Telecomunicación, Universidad de Valladolid, Paseo de Belén 15, 47011, Valladolid, España, e-mails: victor.martinez@gib.tel.uva.es, eduardo.santamaria@gib.tel.uva.es, robhor@tel.uva.es.

Resumen

En este estudio se presenta una Interfaz Cerebro–Computadora que permite controlar las principales funcionalidades de un teléfono móvil de última generación mediante las ondas cerebrales del usuario. El sistema utiliza los potenciales evocados P300, generados a través de un paradigma “odd-ball” visual, para determinar las intenciones del usuario en cada momento. Estas intenciones, convertidas en comandos de la aplicación, se envían por Bluetooth al dispositivo final. La aplicación permite el control del navegador web, Telegram, Twitter, cámara, galería, contactos, llamadas, SMS, alarmas, temporizador y cronómetro. El sistema ha sido evaluado en dos partes: (1) funcionalidades relacionadas con las redes sociales (i.e., Telegram y Twitter) con 10 sujetos de control (92.3%) y 18 sujetos con graves discapacidades motoras (80.6%); y (2) el resto de funcionalidades con 5 sujetos de control (94.2%). Los resultados sugieren que el sistema es adecuado para su uso por parte de personas con grave discapacidad, reduciendo la brecha digital y aumentando la accesibilidad en este tipo de dispositivos.

1. Introducción

Las Interfaces Cerebro–Ordenador (BCI, Brain–Computer Interface) permiten el control de aplicaciones o dispositivos externos utilizando únicamente las ondas cerebrales del usuario [1]. Generalmente, el objetivo que motiva su diseño y desarrollo es mejorar la calidad de vida de las personas que sufren graves discapacidades motoras, producidas a raíz de: (i) enfermedades neurodegenerativas, (ii) anomalías congénitas, o (iii) traumatismos, entre otras causas [1]. Para ello, se monitoriza la actividad cerebral a través del electroencefalograma (EEG), dada su naturaleza no invasiva, facilidad de uso, bajo coste y portabilidad [1]. Con el fin de identificar las intenciones del usuario en tiempo real, la interfaz puede usar distintas señales de control [2]. Concretamente, las señales exógenas, como los potenciales evocados P300, suelen emplearse para asegurar la eficacia del sistema con cualquier usuario independientemente de la discapacidad motora que presente [2].

El rápido desarrollo de la telefonía móvil en las últimas décadas ha causado un gran impacto en la vida cotidiana que, a su vez, se ha visto aumentado con la aparición de Internet. De hecho, se estima que existen 4.9 mil millones de usuarios móviles en todo el mundo, alcanzando una penetración de mercado del 66% [3]. Sus funcionalidades cubren desde gestionar finanzas hasta leer noticias, pasando por la visualización de vídeos e imágenes, comprar, jugar o consultar información [3]. Sin embargo,

la accesibilidad de estos dispositivos sigue limitada para las personas que sufren graves discapacidades motoras que les impiden usar de manera precisa sus manos y sus dedos.

A pesar del vertiginoso desarrollo de estos dispositivos, existen pocos estudios en la literatura científica que hayan intentado controlar alguna de sus funcionalidades mediante un sistema BCI. Estos estudios están limitados a marcar números en teléfonos móviles [4], [5], aceptar llamadas entrantes [6], o llamar a ciertos contactos [4], [7]. Posiblemente, el trabajo más relacionado con el presente estudio es el desarrollado por los investigadores Elsayy y Eldawlatly [8], que permite a los usuarios abrir aplicaciones pre-instaladas y visualizar la galería de imágenes. No obstante, hasta donde tenemos conocimiento, ninguno de estos estudios se ha centrado en proveer un control en alto nivel de los teléfonos móviles realmente práctico. Además, dado que ninguno de ellos se ha evaluado con una población de usuarios con discapacidad, su efectividad no ha sido probada en un entorno real.

El objetivo de este estudio es doble: (1) diseñar, desarrollar y evaluar un sistema BCI que permita controlar las principales funcionalidades de un teléfono móvil; y (2) verificarlo con una población de usuarios con graves discapacidades motoras para evaluar la utilidad del sistema a la hora de satisfacer sus necesidades cotidianas.

2. Sujetos

Debido a la complejidad del proyecto, este estudio, que aún se encuentra en fase de pruebas, se ha realizado en dos etapas y se han evaluado las distintas funcionalidades con dos poblaciones distintas:

- Funcionalidades de socialización (Twitter y Telegram): 18 sujetos con graves discapacidades motoras (SD, 47.63 ± 9.53 años) y 10 sujetos de control (SC, 26.10 ± 3.45 años). La Tabla 1 resume las características demográficas y clínicas de los SD.
- Resto de funcionalidades: 5 SC (26.2 ± 3.27 años). En un futuro próximo se planea su evaluación con sujetos con grave discapacidad.

3. Métodos

La estructura del sistema BCI desarrollado, ilustrada en la Figura 1, se compone de 3 entidades principales: (1) usuario, donde se adquiere la señal; (2) ordenador, que recibe la señal por cable, la procesa, genera los estímulos

Usuario	Sexo	GD	Enfermedad
SD01	F	90%	Derrame cerebral
SD02	M	80%	Lesión médula espinal
SD03	F	93%	Ataxia de Friedreich
SD04	M	98%	Lesión médula espinal
SD05	F	78%	Ataxia de Friedreich
SD06	M	76%	Parálisis cerebral
SD07	M	99%	Parálisis cerebral
SD08	M	90%	Ataxia de Friedreich
SD09	M	69%	Parálisis cerebral
SD10	M	87%	Parálisis cerebral
SD11	M	86%	Distrofia miotónica
SD12	M	90%	Síndrome polimalformativo
SD13	F	94%	Ataxia de Friedreich
SD14	F	88%	Ataxia de Friedreich
SD15	M	98%	Lesión médula espinal
SD16	M	80%	Lesión médula espinal
SD17	F	89%	Parálisis cerebral
SD18	F	84%	Lesión médula espinal

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los usuarios con grave discapacidad motora. GD: Grado de Discapacidad, F: Femenino, M: Masculino.

visuales y determina la intención del usuario en cada momento; y (3) el dispositivo móvil, que recibe los comandos de manera inalámbrica mediante tecnología Bluetooth, los interpreta y provee realimentación al usuario.

3.1. Adquisición de la señal

La señal EEG de los usuarios se ha registrado a través de 8 electrodos activos, colocados en Fz, Cz, Pz, P3, P4, PO7, PO8 y Oz. El sistema se ha referenciado al lóbulo de la oreja derecha, utilizando FPz como tierra. Los electrodos se han conectado a un amplificador g.USBamp (*g.Tec*, Austria), con una frecuencia de muestreo de 256 Hz. Como pre-procesado, se han aplicado filtros paso-banda (0.1–60 Hz), *notch* (50 Hz), y de referencia de media común. La plataforma BCI2000 se ha empleado para registrar la señal y para procesar los estímulos visuales [9].

3.2. Procesado de la señal

El procesado de señal se realiza en un ordenador portátil que se sitúa en frente del usuario y que, a su vez, monitoriza la señal EEG. El sistema usa un paradigma “odd-ball” para identificar las intenciones del usuario en tiempo real [2], [10]. Para ello, se muestra una matriz con los distintos comandos de control. El usuario únicamente debe fijar la vista en el comando que desee seleccionar, mientras las filas y las columnas de la matriz se iluminan de forma aleatoria. De esta manera, cuando se ilumine la fila o la columna que contienen dicho comando, se producirá un potencial evocado P300 en el córtex del usuario [10]. Estos potenciales se corresponden con deflexiones de voltaje producidas unos 300 ms después de que el usuario haya percibido un estímulo que, en este caso, es visual [2]. El comando que desea seleccionar se predice determinando en qué fila y columna se han producido tales potenciales.

No obstante, la baja relación señal-a-ruido de los potenciales revela fundamental emplear un procesado de señal adecuado para poder detectarlos [11]. En este caso, se ha aplicado: (i) un sub-muestreo a 20 Hz como método de extracción de características; (ii) una selección paso-a-



Figura 1. Estructura general del sistema BCI desarrollado.

paso (máx. 60, $p_{in} = 0.10$, $p_{out} = 0.15$) como método de selección; y (iii) un análisis discriminante lineal (LDA, *Linear Discriminant Analysis*) como método de clasificación [11].

Asimismo, las matrices del paradigma “odd-ball” son esencialmente procesos síncronos. Es decir, el sistema detectará una selección por parte del usuario, aunque éste no esté presentando atención a los estímulos visuales. La sincronía, en este caso, limita enormemente la autonomía de la aplicación, creando la necesidad de contar con un supervisor externo o implementar un comando que permita pausar el sistema cuando el usuario desee visualizar la pantalla del móvil sin realizar ninguna selección. Nuestro sistema cuenta con un control asíncrono que monitoriza la atención del usuario [12]: (i) las señales EEG del usuario prestando atención (i.e., *control state*) e ignorando (i.e., *non-control state*) los estímulos se recogen en una sesión de calibración, (ii) las señales se procesan normalmente, (iii) los *scores* de cada selección p_s devueltos por LDA se introducen en una curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*), y (iv) se calcula el umbral óptimo T maximizando el par sensibilidad-especificidad. En las sesiones de evaluación, se compara la probabilidad final de cada selección con el umbral: si $p_s > T$, la selección se envía al dispositivo móvil vía Bluetooth; si $p_s \leq T$, la selección se rechaza y el sistema recomienda al usuario realizarla de nuevo [12].

3.3. Aplicación final

La aplicación final se ejecuta sobre el dispositivo móvil Android, que recibe los comandos seleccionados por el usuario en tiempo real y actúa en consecuencia, ofreciendo realimentación visual. Debido al gran número de comandos necesarios para controlar todas las funcionalidades de la aplicación, se utilizan varias matrices “odd-ball” que se intercalan a voluntad del usuario. Las funcionalidades que incluye la aplicación son:

- Navegador web. Provee un control total de Google Chrome mediante etiquetado de hipervínculos [12].
- Llamadas. Permite al usuario llamar a cualquier número de teléfono.



Figura 2. (Izquierda) Disposición del equipo en la evaluación del sistema BCI desarrollado: (a) sistema de registro de la señal EEG, (b) pantalla que muestra las matrices “odd-ball”, (c) usuario, (d) tripode que sostiene el dispositivo móvil. (Derecha) Capturas de pantalla de las distintas funcionalidades de la aplicación: (e) navegador web; (f) llamadas; (g) mensajes SMS; (h) cámara; (i) galería; (j) alarma, temporizador y cronómetro; (k) contactos; (l–m) Twitter; (n) Telegram.

- Mensajes SMS. Provee una interfaz que permite leer la bandeja de entrada, de salida y enviar nuevos SMS.
- Cámara. Permite al usuario hacer fotos y grabar vídeos tanto con la cámara frontal como con la trasera.
- Galería. Provee un control sobre la galería de imágenes del teléfono, permitiendo visualizarlas, eliminarlas o rotarlas.
- Alarmas, temporizador y cronómetro. Permite al usuario (i) crear, modificar y eliminar alarmas, (ii) establecer un temporizador, e (iii) iniciar, resetear o crear marcas de tiempo con un cronómetro.
- Contactos. Provee un control total sobre la lista de contactos del teléfono, permitiendo añadir, editar y eliminar contactos, así como realizar acciones con ellos, tales como llamar, enviar un SMS o iniciar un chat de Telegram.
- Twitter. Permite controlar todas las funcionalidades de la red social, incluyendo la posibilidad de interactuar con (1) *tweets*, escribir, responder, “retweetear”, marcar como favorito; y (2) cuentas de usuario, navegación entre perfiles y mensajes directos.
- Telegram. Provee control sobre la aplicación de mensajería instantánea, incluyendo la posibilidad de interactuar con chats individuales, grupos y canales mediante mensajes en tiempo real, o crear nuevos chats con cualquier contacto del teléfono.

3.4. Procedimiento de evaluación

Tal y como se ha mencionado, las funcionalidades de socialización (i.e., Twitter y Telegram), que ocupan más del 56% del tiempo dedicado en los móviles por los usuarios actualmente [13], se han evaluado con 18 SD y 10 SC. El resto de funcionalidades se han evaluado con 5 SC, y en un futuro se evaluará con SD. Para los dos estudios se han realizado 2 sesiones iniciales de calibración, orientadas a entrenar el clasificador, el umbral y hallar el número óptimo de secuencias para cada usuario; y 1 sesión de evaluación, compuesta por una serie de tareas que tenía que realizar cada usuario. En dichas tareas se evaluaban

distintas funcionalidades de la aplicación, y el número de selecciones necesarias para finalizarlas aumentaba progresivamente, con el objetivo de incrementar la dificultad. Cabe destacar que se recogieron métricas tanto cuantitativas (i.e., precisión, tiempo, caracteres por minuto) como cualitativas (i.e., cuestionarios de satisfacción, sugerencias de mejora). En la Figura 3 se puede observar la disposición del equipo en la evaluación, así como capturas de pantalla de las distintas funcionalidades implementadas en el sistema BCI.

4. Resultados

Cuatro de los SD (i.e., SD01, SD07, SD11 y SD13) obtuvieron precisiones inferiores al 70% en la precisión del entrenamiento del clasificador. Dado que 70% se considera la precisión mínima aceptable en la literatura relacionada con los sistemas BCI, fueron descartados de su evaluación posterior [14]. En la Figura 4 se muestran las precisiones medias de cada usuario, así como las puntuaciones cualitativas de los mismos sobre el sistema BCI en ambas evaluaciones.

5. Discusión y conclusiones

La baja precisión en entrenamiento de los cuatro usuarios SD descartados se debe a una gran atenuación o una latencia muy variable en sus potenciales P300. Dado que otros usuarios que sufren las mismas patologías no mostraron este comportamiento, probablemente esté causado por problemas indirectos de visión o control de la mirada. Concretamente, SD01 mostró poca capacidad de atención sostenida; SD07 mostraba temblores involuntarios; SD11 era incapaz de abrir apropiadamente sus ojos; y SD13 reportó nistagmo, que causa movimientos involuntarios de los ojos.

Como se esperaba, los resultados cuantitativos muestran que los SC de ambos grupos obtuvieron precisiones medias más altas (92.3% y 94.2%) que los SD (80.6%). De hecho, esta diferencia en el rendimiento es significativa (test de rangos con signo de Wilcoxon, SC_1USC_2 vs. SD, p -valor: 0.0195). Asimismo, el número de secuencias necesario

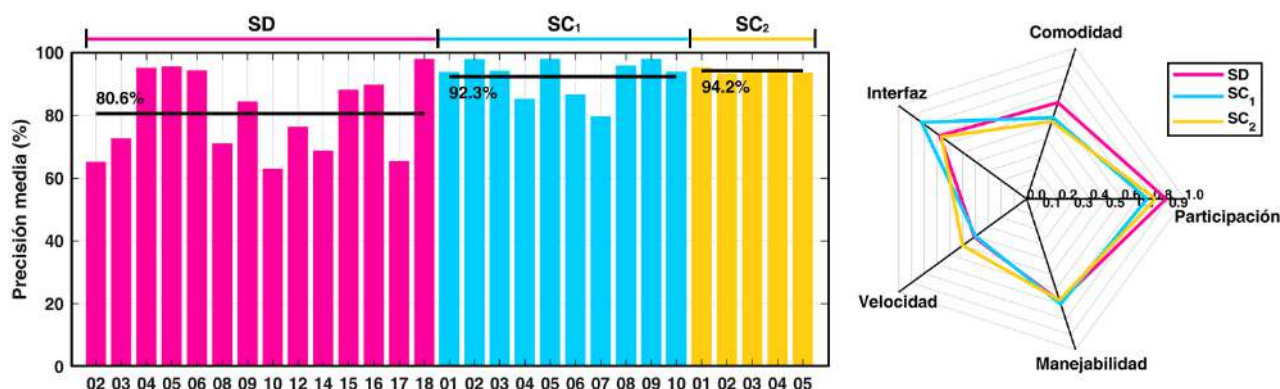


Figura 3. (Izquierda) Precisiones medias de cada usuario en las sesiones de evaluación. (Derecha) Valoraciones medias normalizadas de los distintos aspectos evaluados cualitativamente para cada subgrupo de usuarios. SD: sujetos con discapacidad motora (magenta), SC₁ y SC₂: sujetos de control en las distintas evaluaciones (cyan y amarillo).

para los SC₁ (7.7 ± 2.7) y SC₂ (6.6 ± 1.8) en comparación con los SD (10.9 ± 2.8) también es significativamente menor (test de rangos con signo de Wilcoxon, SC₁USC₂ vs. SD, p -valor: 0.0024). No obstante, la diferencia de precisiones entre las distintas patologías no es significativa (Kruskal-Wallis H test, p -valor: 0.6143). A menor número de secuencias, mayor es la velocidad con la que se maneja el sistema BCI, causando que los SC₁ y SC₂ tardasen menos tiempo que los SD en terminar las tareas.

Los resultados cualitativos muestran que los participantes estuvieron satisfechos con el sistema BCI desarrollado. Todos ellos se mostraron dispuestos a participar en estudios similares, e indicaron que la aplicación no les producía fatiga. Asimismo, el aspecto mejor valorado, en general, fue la interfaz de usuario, que consideraron intuitiva y fácil de manejar. En contraposición, el aspecto peor valorado fue la velocidad de la aplicación. Sin embargo, la velocidad está relacionada directamente con el rendimiento del clasificador. A pesar de que el sistema BCI requiere que un supervisor coloque el gorro EEG a los usuarios antes de controlar la aplicación, el procedimiento es sencillo y de corta duración, pues se emplean electrodos activos, favoreciendo su aplicación en un contexto real.

A raíz de estos resultados, se concluye que el sistema desarrollado permite controlar satisfactoriamente las principales funcionalidades de un teléfono móvil inteligente mediante BCI. Asimismo, a diferencia de la mayor parte de estudios BCI encontrados en la literatura, la aplicación se ha evaluado con usuarios reales, favoreciendo su viabilidad y utilidad en un contexto real.

Agradecimientos

Este estudio se ha financiado por el proyecto DPI2017-84280-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, y el proyecto "Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer" (Interreg VA Spain-Portugal POCTEP 2014–2020) de la Comisión Europea y FEDER. V. Martínez-Cagigal cuenta con una ayuda FPI-UVa de la Universidad de Valladolid.

Referencias

[1] J. R. Wolpaw *et al.*, "Brain-computer interface technology: a review of the first international meeting," *IEEE Trans. Rehabil. Eng.*, vol. 8, no. 2, pp. 164–173, 2000.

[2] J. R. Wolpaw, N. Birbaumer, D. J. McFarland, G. Pfurtscheller, and T. M. Vaughan, "Brain-computer interfaces for communication and control," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 113, no. 6, pp. 767–91, 2002.

[3] S. Kemp, "Digital in 2017: global overview," 2017.

[4] Y.-T. Wang, Y. Wang, and T.-P. Jung, "A cell-phone-based brain-computer interface for communication in daily life.," *J. Neural Eng.*, vol. 8, p. 025018, 2011.

[5] Y. M. Chi, Y. Te Wang, Y. Wang, C. Maier, T. P. Jung, and G. Cauwenberghs, "Dry and noncontact EEG sensors for mobile brain-computer interfaces," *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.*, vol. 20, no. 2, pp. 228–235, 2012.

[6] J. Katona, D. Peter, T. Ujbanyi, and A. Kovari, "Control of incoming calls by a Windows Phone based Brain Computer Interface," *15th IEEE Int. Symp. Comput. Intell. Informatics (CINTI 2014)*, pp. 121–125, 2014.

[7] A. Campbell *et al.*, "NeuroPhone: brain-mobile phone interface using a wireless EEG headset," *Proc. Second ACM SIGCOMM Work. Networking, Syst. Appl. Mob. handhelds - MobiHeld '10*, pp. 3–8, 2010.

[8] A. S. Elsayy and S. Eldawlatly, "P300-based applications for interacting with smart mobile devices," in *7th Annual International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering*, 2015, pp. 166–169.

[9] G. Schalk, D. J. McFarland, T. Hinterberger, N. Birbaumer, and J. R. Wolpaw, "BCI2000: A general-purpose brain-computer interface (BCI) system," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 51, no. 6, pp. 1034–1043, 2004.

[10] L. A. Farwell and E. Donchin, "Talking off the top of your head: toward a mental prosthesis utilizing event-related brain potentials," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 70, no. 6, pp. 510–523, 1988.

[11] D. J. Krusienski *et al.*, "A comparison of classification techniques for the P300 Speller.," *J. Neural Eng.*, vol. 3, no. 4, pp. 299–305, 2006.

[12] V. Martínez-Cagigal, J. Gomez-Pilar, D. Álvarez, and R. Hornero, "An asynchronous P300-based Brain-Computer Interface web browser for severely disabled people," *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.*, vol. 25, no. 8, pp. 1332–1342, 2017.

[13] Ipsos MORI and Google, "Something for everyone: why the growth of mobile apps is good news for brands," 2017.

[14] A. Kübler, B. Kotchoubey, J. Kaiser, N. Birbaumer, and J. R. Wolpaw, "Brain-computer communication: Unlocking the locked in," *Psychol. Bull.*, vol. 127, no. 3, pp. 358–375, 2001.

Virtual visit through augmented reality applications for people with blindness

N. Guerrón Paredes^{1,2}, A. Cobo Sánchez de Rojas^{1,3}, C. Martín Lucendo¹, J. Serrano Olmedo^{1,3}

¹ Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, eglance@ctb.upm.es

² Departamento de Eléctrica y Electrónica, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, Ecuador, neguerron@espe.edu.ec

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, (CIBER-BBN), Madrid, España

Abstract

Reality virtual applications on smartphones were used by people with blindness to explore the interior of an unknown place in a virtual way, in order to acquire sufficient knowledge of the environment and then perform tasks in a real environment. When the avatar walked through the virtual place controlled by the user, then the way of walking of the blind person in the real world was simulated. Four sensitive interfaces were used: voice, beeps, vibration and gestures, to provide relevant information of the space explored. The speed of the speech was modified in each application and an effective playback rate was found. The evidence showed that more obstacles were detected and less time was spent on exploration using twice the speed.

1. Motivation

There are 39 million blind people on the planet and more than 285 million people with visual impairment [1]. 28% of people who are blind work and almost 80% of the blind are over 50; the annual growth rate of blind people on the planet is estimated at 2% due to the increase in the life expectancy of the population.

Blind people can know a place in advance, using a relief map or through audio-descriptions made by a technician and record it in his memory; they also need help from experts in orientation and mobility to make the initial trip with them, until they memorize their own route.

Smart phones have enough accessibility functions and technology to implement location and outdoor guidance services [2][3]; its use by people with blindness has been extended by its moderate costs, ease of interaction with social networks and the support it provides in their daily lives [4][5], however, its use in interiors has not yet been consolidated. There are several projects focused on providing support for indoor mobility, such as e-Glance project [6], where the people can visit a place in advance using augmented reality applications. It is important to know what kind of information is required by the blind person, what warnings and alerts are necessary, how often they are sent and how useful the application is, so that the blind person feels more confident [7].

Augmented reality applications seem very good learning alternatives, because they reduce the effort required to go to the site and to know it; they can also practice at home

as many times as necessary, until you feel confident enough to move to the real place [8].

2. Requirements

There are some game engines for the development of mobile applications, Unity 3D [9] provides native support for mobile platforms and was chosen for the virtualization of spaces and the development of software that controls the information provided to the user.

Applications should allow the game character to move through the virtual environment and explore its interior as a person with normal vision would when visiting a place for the first time. The acoustic output interfaces will notify about the presence of obstacles, the distance to those obstacles and their proximity to other objects present in the room. By means of the voice the relevant part of the environment [10] will be described, through the interaction with the screen it will be possible to access all the virtual structures and objects [11] on the stage and through beeps the user will receive alerts about obstacles in front of the avatar of the game.

2.1. Class diagram of the model of information

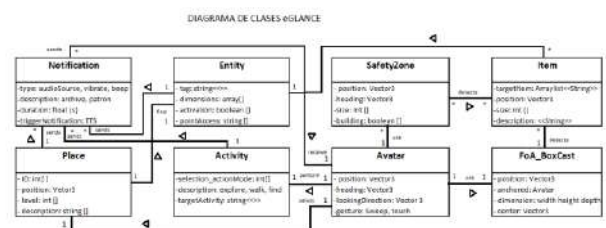


Fig. 1 Model of information

The information model represents the flow of information between the different categories built for the user's interaction with the application (See Fig. 1). In this model we can find eight blocks:

The Notification allows the beep patterns playback, activation/deactivation of vibrating signals and audio.

The place is the site chosen by the user, where he wants to go.

The entity is formed by the objects that will appear in the scene.

The activity is the mode of work of the avatar.

The Safety Zones (SZ) is a physical object, which move and rotate with the user’s avatar. Two lateral zones and two frontal zones were built.

3. Virtual Visit

A virtual visit allows to the blind people to perceive and understand the components in the environment and acquire enough information to perform tasks in the real world [12] [13]. The avatar represents the blind user and can walk around the place to know all the interior space.

Several studies indicate that the use of virtual environments improves efficiency and effectiveness in the development of orientation and mobility skills of blind people [7][14]. It was also reported that virtual reality applications helped blind people to develop locomotion skills in real environments [15] [16].

In this project, we want blind people to know in advance the interior of an unknown place, through augmented reality applications, so that they feel more secure and confident when they visit the real place.

3.1 Mode of Exploration

Proximity Exploration: The user's avatar walks with a user action, and generates alerts and information about the objects that it finds in its path. The user activates the exploration with a finger on the mobile screen and feels the vibrations while the avatar is in motion. At first, the avatar was at the entrance door and then advanced until to collision with an obstacle. The user can change the direction in the movement of his avatar, when he changes his attention to another point of the space explored.

3.2 Sensitive Interfaces

Voice: Provides information about objects, when they objects enter or leave the avatar's security zones. (V1 reproduced at a normal speed, V2 reproduced at a duplicated speed and V3 at three times the speed).

Beep: Alerts the user about possible collisions of the avatar with objects or structures in the scene.

Vibration: Informs the user that the avatar is walking through the virtual world

Gesture: Allows access to the information options of the application and change between exploration and stop.

4. Study

4.1 Participants

Nineteen blind participants (11 men, 8 women, average age 52.2, SD = 14.1) tested twelve applications of augmented reality. One was a student at the Polytechnic University of Madrid and the rest of the participants were recruited at the ONCE Foundation. All have been blind for more than seven years before beginning this study and have no other limitations.

4.2 Variables of Study

We wanted to measure the time it takes a user to explore the virtual space and the number the obstacles (objects and structures) detected with the application, in order to

know the influence of voice speed in the efficiency and efficacy of exploration, and the usefulness in the real-world.

1. *Effectiveness* was determined as the amount of objects and structural elements that the user can detect with the application.
2. *Efficiency* was determined as the duration time of an exploration session.
3. *Usefulness* was determined as the success to complete three types of tasks in the real equivalent of the virtual room.

4.3 Procedure

All participants were informed and gave consent to be recorded during the exploration sessions.

- a. Welcome: All of them received a warm welcome and was informed about the project's objectives.
- b. Training: Participants used a general application to become familiar with the tool and its interfaces
- c. Exploration: Participant explores the virtual room without help and without a time limit.
- d. Questionnaire: The participant fills out a questionnaire about the obstacles encountered and the ease of using the application.
- e. Tasks in real space: The participant is taken to a real room equivalent to the virtual room explored, and is asked to perform three tasks, which consist of finding three points of interest within the room: absolute task (the user starts from the same position where the avatar was in the game and walked to the requested point), relative (the user searched for the next point using the previous position), orientation (the user returns to the starting point).

4.4 Scenarios

Three different virtual rooms representing an office, pubs, and a bedroom, were implemented. Each of these virtual places counted with four walls, two windows, a column, and two doors. In addition, each of these spaces contains six objects (See Fig. 2)

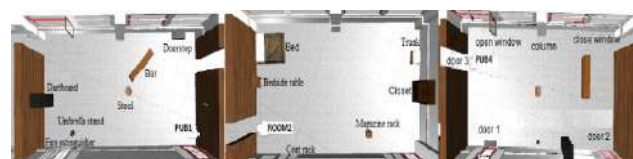


Fig. 2 Virtual rooms

4.5 Configuration of the applications

Participants were involved in three experiences, one by each type of voice interface, with a total of three experiences. Nine applications were built to evaluate the study variables (See Table 1).

ID	Exp 1	Exp 2	Exp 3
1	V1-office	V3-bedroom	V2-pub
2	V3-pub	V2-office	V1-bedroom

Table 1 Configuration of the applications

5 Evaluation and Results

Efficiency:

The dependence of efficiency with the playback rate of voice was assessed with a Friedman's Test that resulted statistically significant (Friedman Chi-square=6.33, DF=2, p-value=0.0421). The pairwise comparison between the three speeds was performed by applying a Tukey test. There is a 39.72% reduction in the duration of exploration with V2 interface compared to V3 (p-value=0.043). There is no statistically significant difference between V1 and V2 (p-value = 0.114) nor between V1 and V3 (p-value=0.92).

Efficacy:

The dependence of effectiveness with the playback rate was assessed with a Friedman's Test, (Friedman Chi-square=6.816, DF=2, p-value=0.033), that resulted statistically significant; where V2 achieved highest percentage in the obstacles detection. The pairwise comparisons were conducted using the Tukey test; V2 entails a 5.9% increases in percentage on detecting, compared to V3 (p-value=0.032); and an increase of 4.6% compared to V1 (p-value = 0.033). There were no statistically significant difference between V1 and V3 (p-value= 0.17).

Usefulness:

In the case of absolute tasks the voice sensitive interfaces V2 resulted statistically significant. The sensitive interface V2 entails a 24% (p-value=0.048) improved in carrying out the absolute task, compared to sensitive interface V1 and a 17.5% (p-value= 0.049) compared to sensitive interface V3. There are not statistically significant between V1 and V3 (p-value=0.67).

In the case of relative tasks (p-value = 0.27) and orientation tasks (p-value = 0.08) the results were not significant.

6 Conclusions

Proximity exploration was an efficient method to know indoor spaces in advance. The virtual exploration carried out by participants with blindness with augmented reality applications allowed them to perform tasks in a real scenario. It was observed that 78% of the participants successfully completed the absolute tasks, 65% the relative tasks and 81% the orientation tasks. The voice provided to the user all the necessary information to know the present obstacles, while the user made his avatar walk around all over the stage. It was noted that voice feedback should be used continuously to reinforce the user's intention. The gestures on the mobile screen and the beep interface were necessary to complement the information received during the exploration stage. When an object or structure enters the frontal security zone, the user received an alert to start or stop the exploration or change the direction of travel of the avatar. The average time of an

exploration session in our study reached fourteen minutes, which is less than the exploration time achieved in another study conducted with virtual environments and haptic devices [17].

The voice reproduced at twice the speed reached statistical significance in efficiency, effectiveness and utility in absolute tasks. We also find a tendency with regard to success in orientation tasks; additional studies with a larger number of users could be useful to confirm this point.

In comparison with other studies that work with mobile applications and haptic devices where blind people used the application to build a cognitive map of the space around them, this study focused on identifying a speed of reproduction that makes the virtual exploration more efficient and effective. These applications of augmented reality do not require the use of other external devices, only the mobile, in this way the blind can practice indefinitely until they feel more secure and safe to go to the real spaces.

We work with three playback rates; however the vibration and the beep interfaces could be considered as other variables in other studies, in this case the vibration was used to warn the user that the avatar was walking within the virtual space and the beep was used to alert the user that the avatar is near an obstacle. In the future, it will be necessary to increase the number of study subjects to improve the statistical power of the experimental protocol.

Acknowledgements

This research was supported by the Indra-Adecco Foundation Chair.

References

- [1] WHO | Visual impairment and blindness. Vis Impair Blind 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/en/>.
- [2] Callejas Cuervo M, Medina Sánchez E. Aplicación móvil como herramienta de ubicación y demarcación de rutas para invidentes, utilizando realidad aumentada *1. *Vent Inform* 2014:27–42.
- [3] Martinez M, Constantinescu A, Schauerte B, Koester D, Stiefelhagen R. Cognitive Evaluation of Haptic and Audio Feedback in Short Range Navigation Tasks. *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*, vol. 8548 LNCS, Springer International Publishing; 2014, p. 128–35. doi:10.1007/978-3-319-08599-9_20.
- [4] Miesenberger K, Fels D, Archambault D, Peñaz P, Zagler W. Computers Helping People with Special Needs. In: Springer, editor. *14th Int. Conf. ICCHP 2014*, Paris: 2014, p. 640. doi:10.1007/978-3-319-08599-9.
- [5] Kwon Y, Kang K, Bae C. Unsupervised learning for human activity recognition using smartphone sensors. *Expert Syst Appl* 2014;41:6067–74.

doi:10.1016/j.eswa.2014.04.037.

- [6] CTB. eGlance 2016. <http://eglance.ctb.upm.es/es/eglance/>.
- [7] Rodriguez-Sanchez MC, Moreno-Alvarez MA, Martin E, Borromeo S, Hernandez-Tamames JA. Accessible smartphones for blind users: A case study for a wayfinding system. *Expert Syst Appl* 2014;41:7210–22. doi:10.1016/j.eswa.2014.05.031.
- [8] De Felice FF, Renna F, Attolico GG, Distante A. A haptic/acoustic application to allow blind the access to spatial information. *Proc - Second Jt EuroHaptics Conf Symp Haptic Interfaces Virtual Environ Teleoperator Syst World Haptics 2007* 2007:310–5. doi:10.1109/WHC.2007.6.
- [9] Unity 3D. Unity 3D 2017. <https://unity3d.com>.
- [10] Picinali L, Afonso A, Denis M, Katz BFG, Denis, M, Katz BFG. Exploration of architectural spaces by blind people using auditory virtual reality for the construction of spatial knowledge. *Elsiever Int J Human-Computer Stud* 2014;72:393–407. doi:10.1016/j.ijhcs.2013.12.008.
- [11] Štorek D, Rund F, Baráth T, Vitek S. ICAD 2013: VIRTUAL AUDITORY SPACE FOR VISUALLY IMPAIRED. *METHODS Test. VIRTUAL SOUND SOURCE LOCALIZATION*, 2013, p. 33–6.
- [12] Cobo A, Guerron NE, Martín C, Serrano JJ, del Pozo F. Computers in Human Behavior Differences between blind people’s cognitive maps after proximity and distant exploration of virtual environments 2017;77:294–308. doi:10.1016/j.chb.2017.09.007.
- [13] Guerreiro J, Ahmetovic D, Kitani KM, Asakawa C. Virtual Navigation for Blind People: Building Sequential Representations of the Real-World. *Assets’17* 2017:280–9. doi:10.1145/3132525.3132545.
- [14] Merabet LB, Sánchez J. Audio-Based Navigation Using Virtual Environments: Combining Technology and Neuroscience. *AER* 2009;3:128–37.
- [15] Sánchez J, De Borba Campos M, Espinoza MM, Merabet LBLBLB. Audio Haptic Videogaming for Developing Wayfinding Skills in Learners Who are Blind. *PMC4254778* 2014;2014:199–208. doi:10.1145/2557500.2557519.
- [16] Papadopoulos K, Koustriava E, Barouti M. Cognitive maps of individuals with blindness for familiar and unfamiliar spaces. *Comput Human Behav* 2017;75:376–84. doi:10.1016/j.chb.2017.04.057.
- [17] Lahav O, Mioduser D. Construction of cognitive maps of unknown spaces using a multi-sensory virtual environment for people who are blind 2008;24:1139–55. doi:10.1016/j.chb.2007.04.003.

Sesión Póster I

Miércoles, 21 de noviembre

Plataforma TIC RoboAGE para la promoción del envejecimiento activo a través de Serious Games

E. Martinena¹, P. Bustos¹, P. Bachiller¹, J. B. Pagador²,

J.L. Moyano-Cuevas², F.M. Esteban² y P. Núñez¹,

¹ RoboLab, Universidad de Extremadura, Cáceres, España, {emartinena, pbustos, pbachiller, pnuntru}@unex.es

² Bioingeniería y Tecnología Sanitaria, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España

Resumen

Los Juegos serios, conocidos normalmente como Serious Games, son aplicaciones lúdicas cuyo objetivo principal no es sólo el entretenimiento, sino que buscan a su vez la consecución de otros logros como la mejora en la educación, la motivación etc. En particular, en el caso de las personas mayores, los Serious Games pueden ser usados para la promoción del envejecimiento activo y la mejora del bienestar de este colectivo. Este trabajo presenta un primer prototipo y su validación inicial de la plataforma RoboAGE, un dispositivo y un Juego serio que promueve la estimulación física, cognitiva y socio-emocional. Para ello la plataforma hace uso de una arquitectura hardware – sensores y tablero –, y un software de adquisición de datos robusto – basado en visión por computador – que permite el seguimiento de la posición de las manos de la persona mayor durante el desarrollo del juego. Este juego persigue por un lado una estimulación física, a la vez que el planteamiento de juegos concretos para la estimulación cognitiva. El sistema desarrollado dispone igualmente de un interfaz humano-máquina para la estimulación socio-emocional durante el juego.

1. Motivación

El envejecimiento de la población europea y la española en particular es un hecho objetivo, y en sí mismo este cambio demográfico constituye un auténtico problema que los gobiernos y la sociedad en general debe atender. Los datos que aporta el Instituto Nacional de Estadística retrata en su último informe de 2017, cómo la población por encima del 64 años está en torno al 19% [1]. Por este motivo, Europa se encuentra en la tesitura del planteamiento de políticas claras que faciliten la toma de decisiones para garantizar la mejora de la calidad de vida de nuestros mayores, promoviendo el envejecimiento activo y saludable y que retrasen su incorporación a los sistemas nacionales de salud – residencias, centros de día, etc.

En los últimos años el interés por el fomento de tecnologías y aplicaciones que van encaminadas a la promoción del envejecimiento activo y saludable es creciente. En este contexto, el proyecto EuroAGE [2], cofinanciado al 75% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del Programa INTERREG V-A España-Portugal (POCTEP) 2014-2020, tiene como objetivo el promover el envejecimiento activo mediante la actividad física cognitiva y socio-emocional. El fin del mismo es mejorar la calidad de vida y el bienestar de las personas mayores, así como el aumento de la esperanza de vida. Dentro de

este proyecto EuroAGE, uno de sus objetivos principales es el desarrollo y validación de diferentes metodologías y sistemas para la promoción de la salud y el bienestar de las personas.

Entre estas nuevas metodologías, la robótica social asistencial, los entornos inteligentes de asistencia, o los Juegos serios conforman ejemplos claros de tecnologías presentes en el proyecto. Los *Serious games* o Juegos serios son aplicaciones lúdicas que persiguen objetivos distintos al entretenimiento. En el caso de los mayores, estos pueden ser usados para promover el envejecimiento activo y saludable o fomentar la estimulación socio-emocional. El objetivo de los mismos radicaría en mejorar la comunicación con el personal sanitario o cuidadores, promover el envejecimiento activo y saludable y la monitorización y seguimiento de actividades al colectivo de personas mayores.

Este artículo describe la plataforma roboAGE, desarrollada para promover el envejecimiento activo y saludable a través de *serious games*. El prototipo inicial de la plataforma roboAGE ha sido propuesto con personal especialista, evaluado en primera instancia por los mismos y desarrollado en el grupo de investigación RoboLab de la Universidad de Extremadura. Actualmente el prototipo RoboAGE consta de un tablero y un sistema de captura del movimiento robusto de la mano, y permite su uso por diferentes personas, así como la configuración de diferentes juegos en base a los requisitos definidos por el profesional. La aplicación roboAGE busca ser versátil y fácilmente adaptable en dificultad y tipología del colectivo de personas mayores.

Este artículo se divide en las siguientes secciones. Tras un breve repaso del estado de la cuestión en materia de *Serious games* para el colectivo de personas mayores destinados a un envejecimiento más activo en la Sección 2, en la Sección 3 introducimos la plataforma roboAGE, las tecnologías involucradas y la mecánica del juego. A continuación, en la sección 4 avanzamos los resultados y la evaluación inicial realizado por el personal sanitario a la aplicación. Finalmente, en la sección 5 introducimos las principales conclusiones y trabajo futuro.

2. Estado de la cuestión

La gamificación o el uso de los videojuegos en diferentes sectores distintos al entretenimiento no es algo nuevo. Durante décadas los juegos se han utilizado en infinidad de situaciones, no sólo como aplicaciones lúdicas, sino también como herramienta para alcanzar distintos objetivos: mantener o mejorar la motivación, facilitar el aprendizaje de contenidos o mejorar la propia autoestima de los participantes [3]. Las posibilidades de los videojuegos son enormes y, además, variadas. Normalmente en estos sistemas se recompensa a los jugadores con puntos o estrellas por la realización de las tareas y se construyen rankings, fomentando el esfuerzo y la colaboración, así como el propio seguimiento de los logros y las ganas de mejorar y seguir jugando.

El uso de los videojuegos en el colectivo de las personas mayores para promover un envejecimiento activo y saludable es variado. Su uso ha demostrado un mayor bienestar en sus usuarios, porque ayuda a mejorar las funciones cognitivas, motoras, emocionales y sociales [4]. A continuación citamos algunos de los ejemplos que pueden encontrarse en la literatura actual en materia de *Serious Games* en personas mayores. En primer lugar, la *WII-terapia* es un ejemplo donde el uso de la consola de videojuegos WII de Nintendo es usada como plataforma de juegos dentro de las residencias del grupo La Vostra Llar. Este sistema realmente no está personalizado para cada persona, y tiene como principal inconveniente que su uso atiende únicamente al propio catálogo de videojuegos de la consola [5]. Su capacidad, por tanto, de adaptarse al mercado cambiante es amplia y actualmente, por ejemplo, este catálogo está desfasado y sin ampliación. Relativo con la promoción del envejecimiento activo, el proyecto Gamapea cofinanciado por el programa FEDER INNTERCONECTA propone el desarrollo de una aplicación para terapia cognitivo-conductual (CBT, Cognitive Behavioural Therapy) en programas de prevención del envejecimiento activo y saludable [6]. El interés es creciente, como también se demuestra a partir de las nuevas empresas del sector socio-sanitario dedicadas a explotar estas ideas, como la joven empresa española Senda [7].

En este artículo se muestra la plataforma RoboAGE que persigue la definición de un prototipo hardware además de un software robusto para la detección robusta y monitorización de la posición de las manos de la persona mayor, de forma que pueda usarse la misma en diferentes juegos serios configurables por el personal sanitario.

3. RoboAGE

3.1. Objetivos

RoboAGE es una plataforma TIC cuyo objetivo principal es la promoción del envejecimiento activo y saludable a través de *Serious games*. Las decisiones en cuanto a los requisitos del prototipo inicial se realizó a partir de diferentes reuniones y cuestionarios con personal sanitario, cuidadores, ingenieros y el propio colectivo de personas mayores. En base a los resultados de estos grupos de

trabajo fue definida una primera versión de la plataforma hardware, el mecanismo de los juegos, los niveles de dificultad, rankings, así como las diferentes posibilidades para futuras mejoras de la aplicación y nuevos juegos serios.

El objetivo de la plataforma RoboAGE es la búsqueda de una estimulación física, cognitiva y socio-emocional a partir del uso de los juegos y aplicaciones de la misma. Tras el análisis de los requisitos, el equipo de ingenieros definió la configuración de la plataforma y su composición (posiciones del tablero y sensores) y los propios juegos. En RoboAGE actualmente existen dos juegos básicos: en el primero, la persona o conjunto de personas mayores deben reconocer elementos de la escena y realizar asociaciones para desplazar, posteriormente, sus manos a diferentes posiciones sobre el tablero. En el segundo, la persona debe manipular la ropa de un armario y llevarlo a un cajón concreto en función de la temporada (invierno y verano)

A partir del desarrollo de los ejercicios por parte de la persona mayor, la aplicación debe evaluar: i) la precisión en el movimiento de las extremidades superiores sobre el tablero (estimulación físico); ii) el tiempo que precisa la persona mayor para llevar a cabo el ejercicio o el conjunto de ejercicios planteados en el juego serio (estimulación cognitivo-físico); y iii) *feedback* de la persona mayor tras la realización de la actividad (estimulación socio-emocional)

3.2. Tecnologías

La plataforma RoboAGE consta de un tablero horizontal donde se proyectan diferentes imágenes. Programado sobre el SO Linux, el jugador o conjunto de jugadores introduce una mano (o ambas, en función del juego) en el tablero y ésta es seguida de forma robusta por el mismo (*tracking*). El sistema de adquisición usa una cámara RGBD de la marca Orbbec, un sistema de detección por segmentación usando color y profundidad de la imagen, así como un tracking optimizado para los juegos desarrollados. Los algoritmos utilizados hacen uso de la librería openCV, modificando sus algoritmos para la detección de la mano, ya sea con la palma extendida o cerrada. En todo momento se mantiene información de la posición de la mano sobre el tablero, independientemente de si existen oclusiones, se modifica la posición o se cambian las condiciones de luz sobre la habitación. A partir de esta posición robusta, el programa en sí, mediante una simple mecánica y chequeo, establece si el jugador o jugadores han realizado correctamente la actividad planteada en el juego serio. Junto a todo lo anterior, RoboAGE dispone de un interfaz simple de Interacción Hombre-Máquina (IHR) para la locución de determinadas frases durante el desarrollo del juego (por ejemplo, “Enhorabuena, has conseguido avanzar un poco más que el día de ayer” o “Adelante, vas por buen camino”). La Fig. 1 muestra un esquema de la plataforma usada, así como imágenes de la segmentación y posterior tracking de la mano.

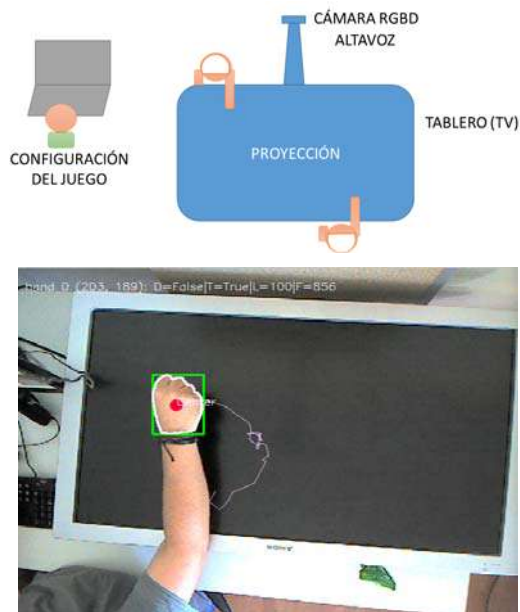


Figura 1. Plataforma e imagen del algoritmo de detección y tracking robusta de la mano del usuario



Figura 3. Ejemplo de error en la selección

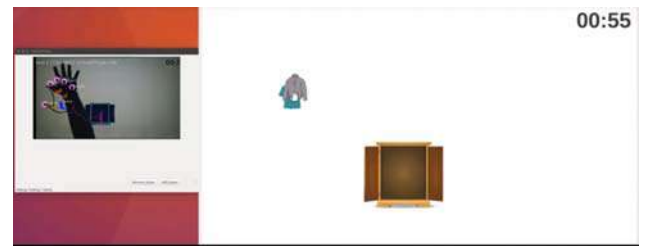


Figura 4. Imagen mostrada en el segundo juego

3.3. Descripción de los juegos de la plataforma

En un primer juego serio cuatro imágenes (configurable en función de las necesidades de la persona mayor) son presentadas en el tablero. En el modo un jugador, la persona ha de seleccionar aquella que no tenga relación entre las demás. En la Fig. 2 se muestra un ejemplo concreto con cuatro imágenes, tres de ellas relacionadas con la higiene bucal. Sobre el tablero, la persona debe mover su mano y seleccionar aquella que no tiene relación con las anteriores (en el ejemplo anterior, sería el martillo). Si la elección ha sido correcta o errónea, el tablero se lo notifica al jugador, así como también es notificado mediante audio por el propio juego (ver Fig. 3).



Figura 2. Ejemplo de imágenes mostradas en el tablero

En un segundo juego serio, un armario muestra diferentes prendas de ropa, mezcladas en cuanto a temporada (verano o invierno). La persona mayor debe seleccionar la prenda, y desplazarla a lo largo del tablero en dirección al cajón correcto (ver Fig. 4).

4. Evaluación y resultados

La plataforma RoboAGE actualmente se encuentra en una fase inicial de prototipado, donde existen funcionalidades aún no implementadas en los juegos, como la posibilidad de almacenar los datos al finalizar la partida – esencial para el seguimiento de la evolución de las personas mayores – o la aplicación de rankings entre diferentes usuarios. Todo ello será desarrollado durante los siguientes meses del proyecto EuroAGE.

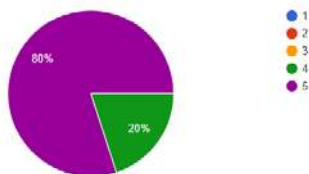
El prototipo RoboAGE, en su estado actual, ha sido evaluado cualitativamente por personal docente y sanitario de la Universidad de Extremadura mediante el empleo de un cuestionario de satisfacción de escala Likert. Este cuestionario trata de evaluar las características en cuanto a aceptabilidad de la plataforma y su uso para facilitar y promover la estimulación de las personas mayores. Las preguntas seleccionadas fueron las siguientes:

- i) Considera útil el resultado de este primer prototipo RoboAGE para promover el envejecimiento activo y saludable
- ii) ¿Considera que los juegos y la plataforma desarrollada promueve la actividad física?
- iii) ¿Considera que los juegos y la plataforma desarrollada promueven la actividad cognitiva?
- iv) ¿Considera que los juegos y la plataforma desarrollada estimulan a la persona mayor en el plano socio-emocional?
- v) ¿Considera que los juegos desarrollados y su interface con el usuario es atrayente y motivador para la persona mayor?

Los resultados de esta encuesta, sobre una muestra de 10 personas (todos del área de la salud), arrojaron los resultados presentados en las Figs. 5-9.

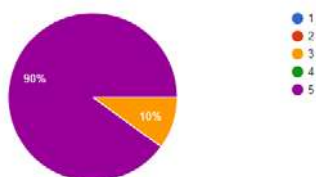
Considera útil el resultado de este primer prototipo roboAGE para promover el envejecimiento activo y saludable

10 respuestas



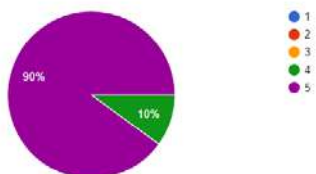
¿Considera que los juegos y la plataforma desarrollada promueven la actividad física?

10 respuestas



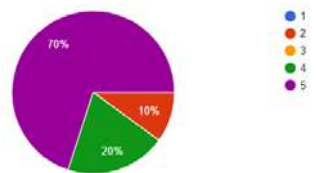
¿Considera que los juegos y la plataforma desarrollada promueven la actividad cognitiva?

10 respuestas



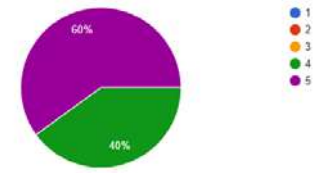
¿Considera que los juegos y la plataforma desarrollada estimulan a la persona mayor en el plano socio-emocional?

10 respuestas



¿Considera que los juegos desarrollados y su interface con el usuario son atrayentes y motivadores para la persona mayor?

10 respuestas



Figuras 5-9. Resultados de la encuesta sobre la plataforma

5. Conclusiones y trabajo futuro

Los Juegos serios o *Serious Games* para personas mayores son aplicaciones cuyo uso irá creciendo progresivamente en todas las áreas de la atención médica, y permitirá que el cambio de comportamiento de este colectivo sea más fácil y divertido, facilitando un envejecimiento más activo y saludable.

En el presente artículo se describe el primer prototipo de la plataforma roboAGE, desarrollada por el grupo de robótica y visión artificial RoboLab de la Universidad de Extremadura, enmarcado en el proyecto EuroAGE cofinanciado al 75% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del Programa INTERREG V-A España-Portugal (POCTEP) 2014-2020. La plataforma y los juegos fueron diseñados a partir de unos requisitos de partida recogidos mediante diferentes reuniones y cuestionarios con los colectivos involucrados.

Esta primera versión ha sido evaluada por profesionales sanitarios. Los resultados demuestran que roboAGE es una plataforma TIC con enorme potencial, si bien actualmente es un prototipo a mejorar y adaptar a las necesidades reales de los centros. Podemos pensar que roboAGE puede ser usado como herramienta de estimulación con mayores gracias a la versatilidad de los juegos desarrollados y su facilidad para adaptarse a las diferentes personas en función de su estado o necesidades. En el futuro más cercano se realizará una evaluación técnica de los algoritmos usados en este artículo.

Agradecimientos

Este proyecto ha sido financiado gracias al proyecto EuroAGE cofinanciado al 75% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del Programa INTERREG V-A España-Portugal (POCTEP) 2014-2020.

Referencias

- [1] España en cifras. Disponible en www.ine.es
- [2] EuroAGE project Disponible en <https://euroage.eu/>
- [3] Ana-M. Ortiz-Colón, Juan Jordán y Míriam Agreda. Gamificación en educación: una panorámica sobre el estado de la cuestión. Educ. Pesqui., São Paulo, v. 44, e173773, 2018.
- [4] M.J. Rodríguez-Fórtiz et al. Serious games for the cognitive stimulation of elderly people, en IEEE International Conference on Serious Games and Applications for Health (SeGAH), mayo 2016.
- [5] Psicoestimulación con nuevas tecnologías: Guía para la implantación de la Wii-Terapia, disponible en <http://www.crealzheimer.es>
- [6] <https://www.gradient.org/en/projects/gamapea/>
- [7] <http://www.sendastartup.com/es/que-es-senda>

Comparative evaluation of physical activity parameters based on wrist-wearable devices

T. Hübner¹, G. García-Sáez¹, J. M. Iniesta¹, J. Tapia¹, C. Pérez-Gandía^{2,1}, M.E. Hernando^{1,2}

¹ Centro de Tecnología Biomédica, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Spain
tilmann.huebner@gmail.com, {ggarcia,jminiasta,jtapia,cperez,mariaelena.hernando}@gbt.tfo.upm.es

²CIBER-BBN: Networking Research Centre for Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine, Madrid, Spain

Summary

Physical activity is a significant part of the treatment and prevention of a wide range of diseases. A modern approach to classification of physical activity is the use of accelerometers that are available in many devices. This work compares characteristic parameters for physical activity which are measured by wrist-wearable devices. The amount of calories burnt, the number of steps taken and the heart rate of four users were recorded while the user is exercising on a treadmill in a physical activity session that included different intensity levels estimated as metabolic equivalents of tasks (METs).

The measured amount of calories burnt and number of steps taken showed to be very similar over all of the devices and users. Higher intensity levels produce a greater variance in the measured data. The measurement of the heart rate showed indistinctive results as the data varied strongly over users and devices. A deeper analysis is needed to overcome synchronization problems.

The study showed that the measurement of physical activity with wrist-wearable devices is reliable and the results for commercial devices and a proprietary algorithm are comparable to each other.

1. Introduction

An active lifestyle is considered an essential part in the treatment and prevention for a wide range of chronic diseases that have become very common [1,2]. Monitoring the Physical Activity (PA) of a patient can help to analyze a patient's behavior and give advice for its further treatment. This requires an objective assessment of the activity and has become an increasing topic in research [3,4].

An interesting part about PA is the amount of energy used, which is often also called energy expenditure (EE). Different methods have been established to measure the EE and quantify the PA. Currently direct calorimetry, indirect calorimetry and doubly labeled water are considered as the gold-standard techniques [4]. Their advantages are the very precise results, but they also have some disadvantages: All of these techniques are very expensive to use and no usable in free-living conditions as a complex setup of technologies is needed. An easier measurement method is the estimation of the EE from the heart rate (HR). It has been shown that the HR almost linearly follows the oxygen uptake ratio (VO₂) and energy consumption in case of aerobic exercise [5]. A rather new but promising approach is the use of multi-axial accelerometers. The costs of these sensors are decreasing and they become more and more available in

very common and non-specialized devices such as smartphones. The wide-spread distribution makes them a very attractive tool to be used in research [6].

The accelerometers are placed at key locations of the body (for example hip or wrist) to enhance detection. Basic personal characteristics like weight, height and sex are included in the calculations to estimate the EE by linear regression from the acceleration data, or using acceleration counts (also known as 'activity counts' based on pre-processed raw data with proprietary algorithms) [7-10].

A key part in the estimation of the energy expenditure efficiently is the classification of the intensity level of the detected physical activity as they are closely related. The energy expenditure induced by physical activity is primarily related to the body weight of the person. Better comparison across individuals can be done with normalization or with alternative magnitudes such as metabolic equivalents of tasks (METs). METs express energy costs as multiples of the basal metabolic rate (BMR) at rest. Several studies have shown that METs are simple descriptors of workload levels across activity modalities and populations [11,12]. Classification of the intensity level from very light to vigorous intensity is done by using multiples of METs. So far this has been done by using regression techniques with threshold values or ad hoc models with a priori knowledge about the nature of the classification problem [13].

Many different approaches to the exact implementation of the classification algorithm have been taken in research and as well in commercially available products. Most of the algorithms are designed for a specific device and its accelerometer. Our research group has developed a Physical Activity Detector (PAD) which is an algorithm integrated in an Android application that estimates and classifies the energy cost of human PA related to METs intensity values. The PAD algorithm uses the internal accelerometer of a smartphone to calculate the type of activity, the intensity of the exercise, the number of steps walked/run and estimates the energy used by means of the METs and the calories burnt. It was initially developed for a Samsung S4 device [14]. The same algorithm has been implemented in a smartwatch with Android Wear to detect physical activity based on the internal accelerometer.

This paper focuses on the comparison of classification results of the PAD algorithm to other commercial devices and algorithms.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

For intra device comparison a number of different types of devices are used at the same time and the output of these devices are compared to each other. The devices used are:

- Samsung S4 (running PAD algorithm)
- Samsung S6 (running PAD algorithm)
- Motorola moto360 (smartwatch, running an adaption of PAD algorithm)
- Two Microsoft Band 2 (running proprietary algorithm, but saving raw data as well)
- Axivity AX3 (only for documentation of raw accelerometer data)
- Zephyr BioHarness (documentation of accelerometer data and hear rate)

The position of the sensors is shown in *Figure 1*.

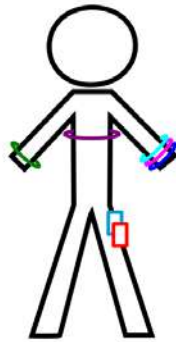


Figure 1. Sensor Position. Green = Microsoft Band 2, dark blue = Microsoft Band 2, pink = Motorola moto360, turquoise = Axivity AX3, purple = Zephyr BioHarness, light blue = Samsung S4, red = Samsung S6.

2.2. Methods

The devices output differ slightly from each other. Therefore only the similar parameters will be compared. This includes the following:

- Steps taken by the subject.
- Calories burnt.
- Heart rate (when available in the device).

The evaluation group consisted of 4 users, all of them males, within an age range of 22 – 38, with different fitness levels (weight 65 kg – 82 kg, 1.75m – 1.85m). All participants performed a PA session following the same protocol that was designed to develop and test the PAD algorithm in a previous work. This consists of seven different levels of activities at different speeds while the user is exercising on a treadmill. Table 1 provides a list of the activity protocol. Each participant wore all the devices shown in *Figure 1* at the same time.

Activity	Speed (km/h)	Duration (min)	Theoretical METs (Ainsworth [11])
Walking	3.2	3	2.8
Walking	4.8	3	3.5
Walking	5.6	3	4.3
Running	6.4	3	5
Running	8.0	3	8.3
Running	11.3	2	11

Table 1. PA session - Activity protocol.

3. Results

The amount of calories burnt during the PA session was calculated by each device and is displayed in *Figure 2*. Over all devices and users the curve is very similar at the beginning. As the speed increases, the variance between devices becomes greater. The variance within each device remains fairly steady.

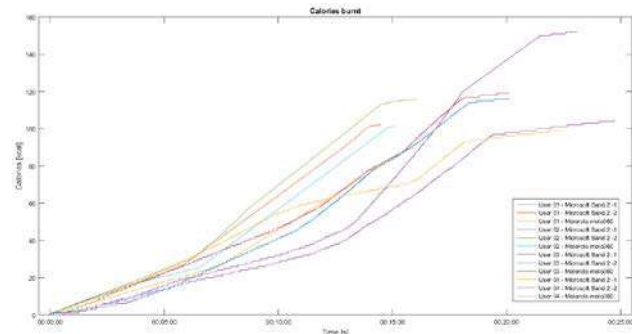


Figure 2. The calories burnt during the physical activity by each of the users and each device is shown over time.

The mean and standard deviation (SD) was calculated for each user over all of the devices depending on the type of activity (walking or running). Table 2 shows the results of these calculations. The deviation for each user is small and the variation in between the users shows very similar results too. The relative percentage of the SD to the mean is about 20% for all the users.

Use r	μ (calorie s walked)	SD(calorie s walked)	μ (calorie s run)	SD(calorie s run)
01	25.6	0	63.9	0
02	25.5	7.5	77.7	10.4
03	31.7	6.2	80.6	13.9
04	33.2	9.0	89.1	35.3

Table 2. Mean and SD of the number of calories burnt by each user during both types of physical activity.

The measured number of steps shows similar results and is shown in *Figure 3*. Although the variance in between the devices appears to be smaller. All curves show a very similar behavior. The total number of steps measured by each of the devices for a user is very similar.

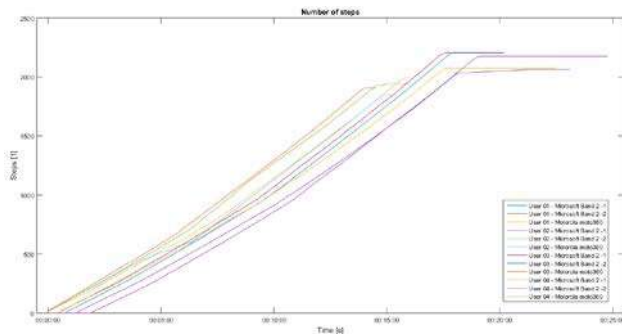


Figure 3. The number of steps during the PA session by each user and each device is shown over time.

User	μ (steps walked)	SD(steps walked)	μ (steps run)	SD(steps run)
01	760	0	1238	0
02	625	131.5	1386	361.3
03	754	95.6	1352	265.7
04	711	124.8	1317	192.4

Table 3. Mean and SD of the steps taken by the user during both types of physical activity.

The same mean and SD analysis as for the calories was performed for the number of steps taken. The data was classified into two types of activity (walking and running) and then the mean and the SD of the total amount of steps taken during each type of activity calculated (Table 3). It shows that the deviation of the number of steps is greater during the more intense activity of running. The relative percentage of the SD in comparison to the mean is 10-15% and increases to about 20-25%. The comparison in between users shows very similar results. The mean number of steps taken is quite similar and the SD during walking as well. During the running exercise the deviation in between the users rises significantly.

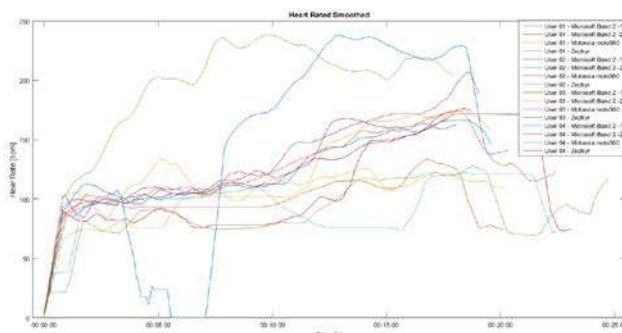


Figure 4. The measured heart rate during the physical activity by each user and each device is shown over time.

The measurement of the HR appears to be more difficult to assess. The resulting graphs are shown in Figure 4. The data had to be smoothed with a large averaging filter to be able to analyze it. It appears that the sensors sometimes are not able to measure the HR correctly. Throughout quite some time the HR does not change at all which leads to the conclusion that there is no correct data available. Even for one user there is a big difference between each of the devices measurements.

4. Discussion

During the study several problems with the measurement systems occurred. Sometimes data was not saved by the device because of connection problems or software bugs. The physical activity data from the Samsung S4 and Samsung S6 was not used for analysis because the parameters were only calculated every 5 minutes. The acceleration data was stored continuously but during the time of the study there was no offline program available to extract the physical activity parameters from the stored data.

The analysis process revealed as well a problem with synchronization of the data. Apparently the devices were set to slightly different times and therefore the data does not always start at the same time. These problems could not be resolved automatically during data analysis.

Despite all problems the results reveal a good similarity between the wrist-wearable devices. Both the burnt calories and the steps taken show for all devices the same trend. Figure 5 shows a boxplot of the available data for the burnt calories. The greater deviation of the burnt calories during running becomes visible. This is partly due to the differences in the users, as the height and weight of the user influences the amount of calories burnt and as well to greater variances in the data recording process.

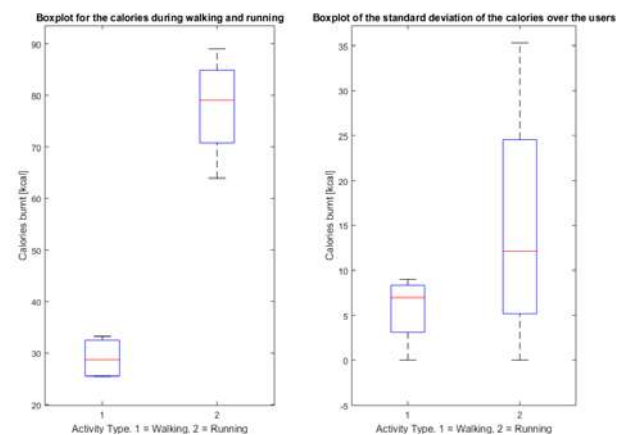


Figure 5. Boxplot of the mean of the calories burnt and the SD for all users.

Figure 6 shows the same analysis for the number of steps taken. The variance in the mean number of steps taken appears to remain equal for both activities. The great outliers in the SD are because of a lack of data.

The measurement of the HR does not seem to be very reliable as there are times without a valid signal. In Figure 7 the measured heart rate is grouped into intervals of one minute. The great range of outliers and confidence interval support the assumption about the limited reliability of the HR sensors on wrist-based devices. As the marked means show a trend can be derived from the heart rate sensors but relying on only one of these devices can cause significant false assumptions of the current HR.

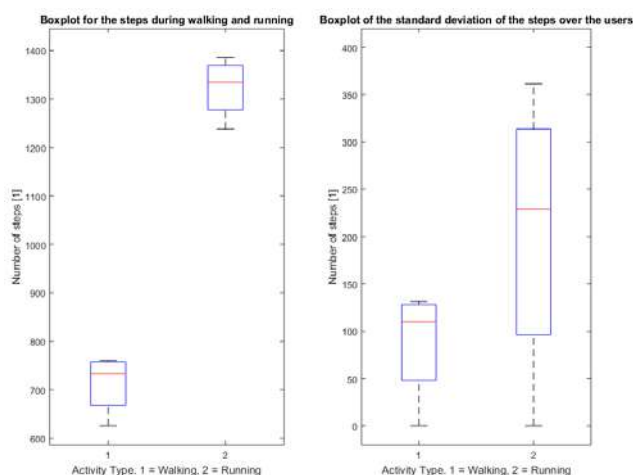


Figure 6. Boxplot of the mean number of steps and the SD for all the users.

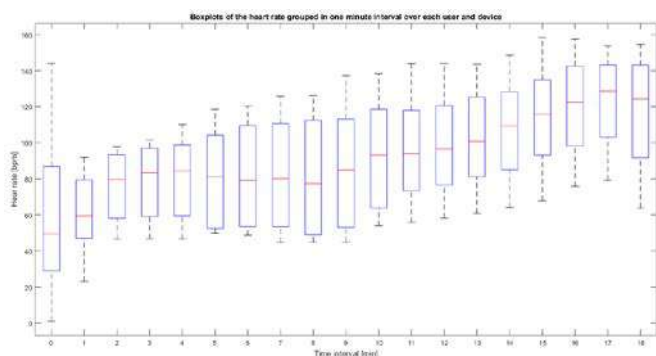


Figure 7. Boxplot of the HR. Each box represents a time interval of one minute and accumulates the HR measured by all the devices and for each user.

5. Conclusion

The study showed that the measurement of PA with wrist-wearable devices is possible and the results for different devices are comparable to each other.

More work has to be done with deeper analysis of the available data and techniques to overcome synchronization problems have to be developed. The analysis of the data should be repeated for a greater number of users in order to achieve more reliable results.

For the HR analysis it has to be considered that these graphs show the measured HR of all the users. Because of different fitness levels each user reacts differently and the HR does not necessarily increase in the same manner.

Acknowledgments

We would like to thank the Department of Health and Human Performance at the Faculty of Physical Activity and Sport Sciences-INEF for their collaboration. This work has been funded by the Spanish grant “FitCLoop”(PI14/00109), co-funded by FEDER.

References

[1] Fogelholm, M. Physical activity, fitness and fatness: relations to mortality, morbidity and disease risk factors. A systematic review, *Obesity Reviews* 11(3), 2010, pp 202–221.

[2] Colberg, Sheri R, Exercise and Type 2 Diabetes: The American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary, *Diabetes Care* 33 (12), 2010) 2692–2696.

[3] Westerterp, KR, Assessment of physical activity: a critical appraisal, *European Journal of Applied Physiology* 105 (6), 2009, pp 823–828.

[4] Valanou EM, Bamia C, Trichopoulou A, Methodology of physical-activity and energy-expenditure assessment: A review, *J Public Health* 14 (2), 2006, pp 58–65.

[5] Freedson PS, Melanson E, Sirard J. Calibration of the Computer Science and Applications, Inc. accelerometer, *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30 (5), 1998, pp 777–781.

[6] Crouter S, Churilla J, Bassett D, Estimating energy expenditure using accelerometers, *European Journal of Applied Physiology* 98 (6), 2006, pp 601–612.

[7] J. H. Migueles, C. Cadenas-Sanchez, U. Ekelund, C. Delisle Nyström, et al., Accelerometer Data Collection and Processing Criteria to Assess Physical Activity and Other Outcomes: A Systematic Review and Practical Considerations, *Sport. Med.*, 47 (9), 2017, pp 1821–1845.

[8] A. Doherty, D. Jackson, N. Hammerla, T. Plötz, P. Olivier, et al., Large Scale Population Assessment of Physical Activity Using Wrist Worn Accelerometers: The UK Biobank Study, *PLoS One*, 12 (2), 2017, pp. e0169649.

[9] K. Lyden, S.L. Kozey, J.W. Staudenmeyer, P.S. Freedson, A comprehensive evaluation of commonly used accelerometer energy expenditure and MET prediction equations, *European Journal of Applied Physiology* 111 (2) (2011) 187–201.

[10] Altini M, Penders J, Vullers R, Amft O, Estimating energy expenditure using body-worn accelerometers: a comparison of methods, sensors number and positioning, *IEEE journal of biomedical and health informatics* 19 (1), 2015, pp 219–226.

[11] Ainsworth BE, Haskell WL, Herrmann SD, Meckes N, Bassett DR JR, et al, Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values, *Medicine and science in sports and exercise* 43 (8), 2011, pp 1575–1581.

[12] Byrne NM, Hills AP, Hunter GR, Weinsier RL, Schutz Y, Metabolic equivalent: one size does not fit all, *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. 1985), 99 (3), 2005, pp 1112–1119.

[13] Bonomi AG, Plasqui G, Goris AHC, Westerterp KR, Improving assessment of daily energy expenditure by identifying types of physical activity with a single accelerometer, *Journal of Applied Physiology*, 2009.

[14] Hatsek A, Sofer P, Shalev-Szpiniak DA, Federico P, Sacchi L, Hernando ME, García-Sáez G, Goldstein A, Jones V, Peleg M. Deliverable “6.1: Design Documents”, *MobiGuide FP7 project 287811* Brussels, 2012.

Andamios celulares con función gradiente fabricados mediante impresión 3D para implantes hueso-ligamento.

N. Sadaba Larraona¹, E. Zuza Hernandez¹, J.R Sarasua Oiz¹, J. Muñoz Ugartemendia¹

¹ Departamento de Ingeniería Minera y Metalúrgica y Ciencia de los Materiales, Instituto de materiales poliméricos (POLYMAT), Universidad del País Vasco, escuela de Ingeniería de Bilbao, Alameda de Urquijo s/n 48013 Bilbao (Spain)
naroa.sadaba@polymat.eu, {ester.zuza, jr.sarasua, jone.munoz}@ehu.eus

Resumen

En las lesiones ortopédicas están implicados más de un tejido. Estas lesiones sobre todo ocurren en las articulaciones, donde se unen los huesos mediante ligamentos, tendones, músculos y/o cartílagos. Por ello se decide construir un andamio celular gradiente donde se ven implicadas zonas duras como hueso y zonas blandas (tendones, ligamentos...). Se puede variar la geometría del andamio celular, es decir, una geometría para cada zona o se puede variar los materiales, un material distinto en cada zona. En este trabajo se utilizarán diferentes materiales y diferentes geometrías para cada zona.

En este trabajo se realizara un implante para el ligamento anterior cruzado, en el cual están implicados el hueso y el ligamento. Se usarán poliésteres debido a sus propiedades biodegradables, de este modo se obtendrá un andamio celular gradiente biadsorbible. Para ello imitarán tanto las geometrías del hueso, ligamento y de su interfase como su propiedades. Finalmente se analizarán las propiedades térmicas, mecánicas y reológicas de los materiales.

1. Introducción

La fabricación aditiva, y sobre todo la impresión 3D nos brinda un futuro tecnológico de grandes expectativas. En ella, se parte de un fichero digital STL, en cual se dibuja un objeto tridimensional, este pasa a un programa para dividirlo en capas y finalmente, este se lleva a la impresora. El objeto digital 3D y el objeto final, deben ser iguales.

El modo de impresión 3D más común, es la impresión por hilo, es decir se construye un objeto añadiendo capa tras capa de material fundido. Pero hay diversos modos de impresión, según las sociedad americana de ensayos y materiales (*American Society for Testing and Materials* (ASTM)), las impresoras se clasifican en siete grupos. Como se ha mencionado anteriormente la principal ventaja de esta tecnología es su fácil prototipado, tanto en estructuras nano como micro, por ello esta nueva tecnología puede traer grandes avances en diferentes áreas como, en la enseñanza, en las fabricación textil, carrocería aeronáutica, construcción, etc. pero sobre todo donde más ventajas ofrece es el área de la medicina.

Por otro lados, los materiales poliméricos, han sufrido un gran avance los últimos años, debido a su versatilidad, su baja densidad o su transparencia entre otras propiedades[1-5]. Sobre todo los materiales poliméricos biodegradables han tenido gran impacto, ya que estos

pueden estar en el cuerpo humano durante un tiempo limitado, después estos son adsorbidos por el cuerpo humano. Estos materiales se usan sobre todo en la ingeniería de tejidos por ejemplo en la liberación controlada de fármacos, en suturas, parches, implantes, etc [6-10].

Combinando estas dos líneas por una lado la impresión 3D y por otro los materiales poliméricos biadsorbibles y biocompatibles, se pueden fabricar andamios celulares con distintas geometrías y propiedades mecánicas para regenerar casi cualquier tejido del cuerpo humano. Por ejemplo los andamios celulares para regenerar hueso se consiguen con las poliláctidas y sus derivados [11-13] por el contrario los andamios para regenerar la piel se obtiene con hidrogeles [14]. Los materiales que se utilizan deben tener propiedades similares a los tejidos que se quieras regenerar. Para las zonas duras del cuerpo como el hueso se utilizan materiales más rígidos mientras que las zonas blandas como el cartílago, piel, ligamentos, etc. se utilizan materiales más maleables y dúctiles.

De todos modos en muchas lesiones y sobre todo en las lesiones de articulaciones hay más de un tejido implicado, por ello en este trabajo se propone construir un andamio celular con función gradiente. Se realizara un andamio para el ligamento anterior cruzado en el cual están implicados el hueso y el ligamento. Para construir este andamio se usara la impresora 3D y poliésteres debido a su versatilidad de propiedades, se selecciona la Poly-L-Lactida (PLLA) como sustituyente del Hueso y Poly(L-Lactida-co-ε-Caprolactona) (70:30) (PLCL) como sustituyente de los ligamentos. Para realizar la interfase generada entre el hueso y el ligamento se usaran mezclas de ambos materiales.

Para poder obtener un andamio biocompatible y biodegradable mediante impresión 3D, es imprescindible conocer las propiedades tanto físicas como térmicas de estos materiales. Por ellos se caracterizaran los materiales tanto térmica como físicamente antes de su impresión, después se relacionaran estas propiedades con los parámetros de impresión, para obtener los mejores resultados posibles a la hora de imprimir. Finalmente se analizarán las propiedades de andamio.

2. Parte experimental

2.1. Materiales

Poli (L-lactida), suministrada por Biomer (Alemania), y poli(L-Lactida-co-ε-caprolactona) (PLCL) con composición Lactida/ ε-caprolactona 70/30 mol.% respectivamente. Suministrada por Purac (Países Bajos)

2.2. Preparación de las muestras

Se usaran dos procesos para la obtención de las muestras, primeros se realizaran las mezclas de PLLA/PLCL para la realización de la interfase, mediante la extrusora vertical DSM Xplore micro-compounder. El polímero se procesara a 200°C y a 100 rpm durante 4 minutos. Una vez que se obtienen las mezclas se les dará forma con la prensa (Collin P 200E hydraulic press). El material se fundirá a 200°C y se le aplicará una presión de 200 bar, después se realiza un enfriamiento rápido en agua, las muestras obtenidas tendrán el espesor de 1mm.

2.3. Impresión en tres dimensiones

Se utilizara la impresora 3D-Bioplotter (Developer Series, EnvisionTEC GmbH (Alemania). Primero se dibuja el objeto que se quiere imprimir en Solidworks 2016 X64 Editor, aquí se diseña la geometría exterior del andamio celular. Una vez diseñada la geometría, este archivo se abre en Prefactory RP, este programa separa el equipo. Fielmente este se lleva a la impresora y aquí se le da forma a la geometría interior del andamio celular.

Con la impresora 3D-Bioplotter ofrece la posibilidad de imprimir de tres modos diferentes, mediante fundido, mediante disolución y como curación UV. Para este trabajo se selecciona el método de impresión por fundido. Mediante este método el primer parámetro de impresión que se necesita conocer es la temperatura, la cual estará entre la temperatura de fusión (T_f) de degradación (T_d). Para la obtención de la T_f se usará la calorimetría diferencial de barrido (DSC) mientras que la T_d se obtendrá por el Análisis termogravimétrico. La presión y la velocidad de impresión se obtendrán mediante ensayos reológicos.

3. Resultados

Antes de comenzar con la impresión de los materiales será imprescindible saber si estos tienen propiedades similares a las de los tejidos que van a reemplazar durante un periodo. Una vez que se verifique que son aptos se comenzará con la impresión 3D.

3.1. Propiedades mecánicas

Se analizarán la ductilidad, la resistencia a tracción y la elongación de los materiales para ver si son similares a las de los tejidos a sustituir. Para ello se realizarán ensayos de tracción siguiendo la norma ISO 527-2 (ISO 527-2 / 5A / 5).

Como era de esperar el PLLA tiene una resistencia a tracción del 71MPa y una elongación del 12%. Por el contrario el copolímero PLCL muestra un comportamiento elastomérico, con una elongación de 837 %. Como se puede observar estos dos materiales tienen

propiedades muy diferentes el PLLA tiene un comportamiento termoplástico mientras que el copolímero tiene un comportamiento elastomérico.

Si se analiza la figura 1 se puede ver como las mezclas PLLA/PLCL tienen dos comportamientos claros. Las mezclas 80/20, 60/40 y 50/50 muestran un comportamiento termoplástico al igual que el PLLA. Mientras que las mezclas 40/60 y 20/80 muestran un comportamiento elastomérico. Estos resultados se atribuyen al fenómeno de inversión de fases. A partir de la mezcla 50/50 se da un cambio de matriz, es decir pasamos a tener una matriz de PLLA a tener una matriz de PLCL, por ello a partir de esta mezcla el comportamiento es elastomérico y al contrario.

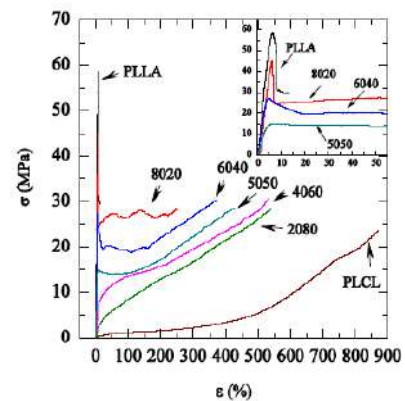


Figura 1. Curvas de tracción del PLLA, PLCL y las mezclas de PLLA/PLCL.

Por otro lado la adición del PLCL en el PLLA hace que este reduzca su resistencia a la tracción pero aumenta su elongación. Por ejemplo en las mezclas de 20 y 40 % se obtienen resistencias de 47MPa y 28 MPa respectivamente, y si se comparan las elongaciones con el PLLA obtenemos un incremento del 204% y 239%.

Como se observa en la figura 2, tanto los polímeros puros como las mezclas son válidos para sustituir tejidos del cuerpo. Por lo tanto estas mezclas son adecuadas para la realización del andamio celular con función gradiente, mediante impresión 3D.

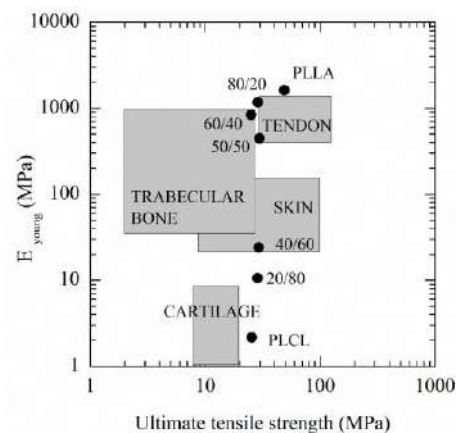


Figura 2. Propiedades mecánicas de los tejidos y las propiedades mecánicas de nuestros materiales PLLA, PLCL y mezclas de PLLA/PLCL.

3.2. Impresión 3D

Como se ha mencionado anteriormente el método de impresión seleccionado es, impresión por fundido. Por lo tanto, a la hora de imprimir estos materiales tienen que estar fundidos. Por ello, antes de comenzar con los parámetros de impresión es imprescindible conocer el funcionamiento de la impresora. En esta impresora el material no necesita estar en forma de hilo para poder imprimirlo, el material puede estar en polvo o en grana. El material se introduce en las cabezas de impresión, como se puede ver en la figura 3. Una vez que el material está cargado, el cabezal móvil coge la cabeza de impresión y comienza a imprimir sobre el plato fijo. El material es empujado mediante aire o nitrógeno a presión de este modo el material atraviesa el cabezal y comienza a salir por la punta o aguja.

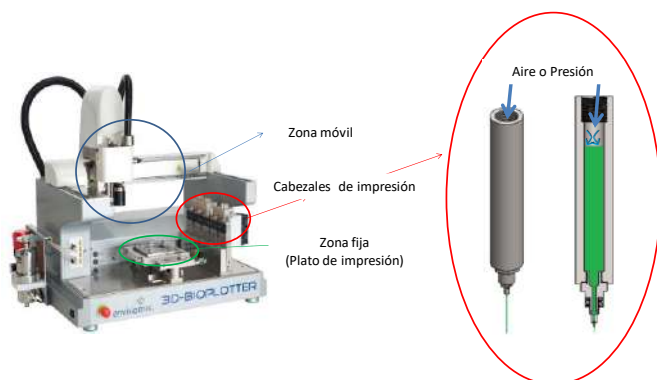


Figura 3. Impresora 3D (3D-Bioplotter)

Una vez que se sabe el funcionamiento de la impresora, nos centraremos por lo tanto en buscar los parámetros. Primero se buscarán las temperaturas de impresión, para ello se deben conocer las temperaturas de degradación y de fusión y la temperatura de transición vítrea (T_g) de los materiales. En la tabla 1. se observan las temperaturas del PLLA, PLCL y las mezclas de PLLA/PLCL.

PLCL(%)	T_{g1} (°C)	T_{g2} (°C)	T_f (°C)	T_d (°C)
0		63	186	210
10		60	181	211
20		57	180	209
30		55	179	211
40	26	55	171	210
50	24	54	170	208
60	26	55	170	200
80	28	56	168	200
100	25			

Tabla 1. Propiedades térmicas del PLLA, PLCL y las Mezclas de PLLA/PLCL.

Se puede ver como las mezclas que tienen menos de 40 %, es decir 90/10, 80/20 y 70/30 tienen solo una temperatura de T_g , es decir, estos en estado amorfo solo sufren una transición, por ello se puede decir que son mezclas miscibles. En cambio las mezclas que superan el 40 % de PLCL tienen dos temperaturas de transición en estado amorfo, la primera temperatura de transición es rica en PLCL mientras que la segunda es rica en PLLA

por ello deducimos que son mezclas inmiscibles. Para este trabajo se descartarán estas mezclas ya que pueden provocar problemas a la hora de imprimir.

Un vez que tenemos que conocemos el rango de temperaturas de impresión, se define el tamaño del hueco y el tamaño de del diámetro de la aguja ya es que esto nos afectará a la hora de definir la presión y la velocidad de la máquina. Para este trabajo se seleccionará tamaños de poro de 0.5 mm puesto que se sabe por bibliografía que este tamaño es ideal para el crecimiento de las células [15-16], Por lo tanto para este tamaño de poro se seleccionará un diámetro de aguja de 0.3 mm.

La presión y la velocidad están relacionadas con el diámetro de la punta y sobre todo con la viscosidad del material, por lo tanto estos materiales se calcularán con la ayuda de la reología [17]. De todos modos cuanto mayor es el tamaño de aguja menor será la presión y mayor la velocidad y al contrario. Por lo tanto los parámetros aquí obtenidos solo sirven para tamaños de aguja de 0.3mm.

Se comenzó a calcular los parámetros del PLLA, puesto que es el más usado en impresoras 3D y además, es uno de los materiales puros usados en este trabajo. Todos los materiales necesitan un precalentamiento de 15 minutos.

Después se comienza a imprimir, lo que se observa es que el PLLA se degrada muy rápido dentro de la impresora. Para imprimir el andamio celular del PLLA se necesitan velocidades muy bajas y presiones altas, el problema es que a medida que va degradando el material, las condiciones de impresión cambian, por lo que es imposible imprimir un andamio de grandes dimensiones. El máximo tiempo que se puede estar imprimiendo es 20 minutos, si lleva más tiempo, construir el andamio celular es imposible.

Una vez definidas las condiciones de impresión del PLLA se comienza con el siguiente material puro el copolímero PLCL. En este caso la temperatura de impresión es más baja además tiene una mayor estabilidad térmica. Y finalmente se comenzó con las mezclas PLLA/PLCL, puesto que se eliminaron las mezclas con un porcentaje superior al 40% de PLCL, se decidió, añadir nuevas mezclas 5, 15 y 25 % de PLCL. Los parámetros de la impresión se pueden observar en la tabla 2.

%PLCL	T (°C)	P (bar)	V (mm/s)	Preflow (s)	Postflow (s)	tiempo espera entre capas (s)
0	195	7,6	6,6	0,01	0	0
5	185	8,4	3,3	0,01	0	0
10	185	8,1	3,3	0,01	0	0
15	181	7,8	3,7	0,01	0	0
20	181	7,5	3,5	0,01	-0,01	0
25	180	7,7	4,3	0,01	-0,01	15
30	180	7,5	4,1	0,01	-0,01	15

Tabla 2. Propiedades de impresión del PLLA, PLCL y las Mezclas de PLLA/PLCL.

Una vez definidos todos los parámetros se comenzó con la impresión del andamio celular con función gradiente. Cada capa de material tiene una geometría diferente, la geometría del hueso son cuadrados de 0.5X0.5 mm y esto se va alargado hasta conseguir una geometría lineal para el ligamento.

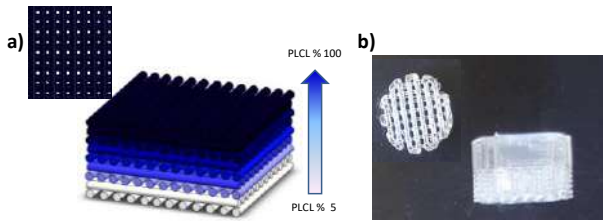


Figura 4. Andamio celular con función gradiente.

En la figura 4. se observa como queda el andamio con función gradiente. Se decide hacer la parte del hueso con la mezcla PLLA/PLCL 95/5 puesto que las propiedades mecánicas son muy similares a las del PLLA pero tienen mayor estabilidad térmica.

4. Conclusiones

En este trabajo se analizan las propiedades mecánicas del PLLA, PLCL y las mezclas PLLA/PLCL y las propiedades de impresión para conseguir el andamio celular con función gradiente.

Como las propiedades mecánicas de las mezclas son similares a las de los tejidos que se quieren imitar, se decide que los materiales son adecuados para construir el andamio celular con función gradiente.

Por otro lado como el PLLA tiene una resistencia térmica muy pobre se decide quitarlo del andamio con función gradiente debido a los problemas que causa con la impresión, y en lugar del PLLA se usará PLLA/PLCL 95/5 que mejora la estabilidad térmica y mantiene las propiedades térmicas similares.

De este modo se consigue obtener un andamio celular con función gradiente construido con mezclas de PLLA/PLCL (máximo 30 % de PLCL) y de PLCL.

Agradecimientos

Por último agradecer al departamento de educación del gobierno vasco (GV/E) también al departamento de investigación y departamento de industria del gobierno vasco. Agradecer la financiación del MINECO. N.Sadaba agradece la beca predoctoral a la beca predoctoral de la fundación Polymat (*Basque Center for Macromolecular Design and Engineering*).

Referencias

[1] Luwison D.C., *Met.Eng. Q.* 1965, 5(3), 1-6.
 [2] Williams D.F., Roaf R., *Implants in surgery*. Ed. W.B Saunders, 1973.
 [3] Vallet-Regi., M. *J.Chem. Soc. Dalton Trans* 2001, 97-108.
 [4] Sastri V.N., *Plastics in Medical devices: properties requirements and applications*. Ed. Elsevier 2010.

[5] Lanza R., Langer R., Vacanti, J.. *Principles of Tissue Engineering*. Ed. Elsevier, 3rd Ed. 2007
 [6] S.S. Silva, J.F. Mano, R.L. Reis. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2010, 30,200-221.
 [7] H. Tian, Z. Tang, X. Zhuang, X. Chen, X. Jing. *Prog. Polym. Sci.* 2012, 37, 237-280.
 [8] J. Girones Molera, J.A. Mendez, J. San Roman. *Curr. Pharm. Des.* 2012, 18, 2536-2557.
 [9] M. Prewitz, et al. *Macromol. Rapid. Commun.* 2012, 33,1420-1431.
 [10] A.P. Gupta, V. Kumar. *Europ. Polym. J.* 2007, 43, 4053-74.
 [11] Gregor, A. et al. *J. Biol. Eng.* 11, (2017).
 [12] Grémare, A. et al.. *J. Biomed. Mater. Res. A* 106, 887–894 (2018).
 [13] Zhang, H. et al. *Sci. Rep.* 7, 15255 (2017).
 [14] Bradshaw, M. et al. *Sci. Rep.* 4, 6903 (2014).
 [15] Bidan, C. M. et al. *Adv. Healthc. Mater.* 2, 186–194 (2013).
 [16] Kilian, K. A., Bugarija, B., Lahn, B. T. & Mrksich, M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 4872–4877 (2010).
 [17] Balogová, A. et al. *Lékař Tech. - Clin. Technol.* 47, 81–87 (2017).

Procesado de Señal I

Miércoles, 21 de noviembre

On the Bipolar Electrograms Obtained from Electrocardiographic Imaging

R. Caulier-Cisterna¹, S. Muñoz-Romero^{1,2}, Margarita Sanromán-Junquera¹
A. García-Alberola³, 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).

Abstract

In the last years, Electrocardiographic Imaging (ECGI) systems have been developed to support the study of cardiac arrhythmia. In order to clinically validate those systems, it is often necessary to use the estimated epicardial potentials, which correspond to the electrode-recorded unipolar electrograms (EGMs) in electrophysiological studies, with the features obtained from bipolar EGMs that are often used to establish the clinical criteria running in the daily practice. In this work, the properties expected in the bipolar EGMs were scrutinized, in terms of the amplitude of the neighbor EGMs and the spatial consistency of closely recorded EGMs for each given EGM in a cardiac location. Several possible Digital Signal Processing Operators (DSPOs) were explored as possible basis for the calculation of bipolar EGMs from the unipolar EGMs from ECGI, namely, maximum neighbor amplitude, minimum neighbor distance, and random neighbor. For each of these DSPO, the impact on the amplitude for each estimated bipolar EGM were analyzed. Our results show that the optimal among these DSPO to calculate the bipolar EGMs associated to a given spatial location in the cardiac epicardium is obtained when using the neighbor with maximum EGM amplitude, as supported by its usefulness to identify scarred regions and by spatial consistency properties. These results allow to establish a comparison of ECGI estimated potentials with the usual electrophysiological criteria when these are established in terms of bipolar EGMs.

1 Introduction

Electrocardiographic Imaging (ECGI) is a novel imaging modality developed in Rudy's Laboratory [1, 2], which maps the cardiac electrical activity that has been noninvasively recorded on the torso onto the heart epicardial surface. Noninvasive diagnosis of arrhythmias is currently based on the standard 12-lead Electrocardiogram (ECG) [3] which involves measuring electric potentials from the heart, but these measurements still can not provide precise information on the localization of regional electrical activity in the heart, and the resolution of the spatial activation

sequences during arrhythmias still can be improved. In ECGI, a multi-electrode vest is first used to record 250 simultaneous signals of body-surface ECGs. Then, by using these ECGs together with geometrical information from a computed tomography or magnetic resonance imaging scan, a mathematical algorithm reconstructs the electrical potentials, which closely correspond to unipolar electrograms (EGMs) on the epicardium, so that the activation sequences and the repolarization patterns on the heart epicardial surface can be determined.

The electrophysiological study (EPS) is an invasive procedure in which catheters are introduced into the human body through veins and/or arteries, in order to reach the heart and to record the electrical activity of the different cardiac cavities from its inside. The signals recorded in this type of study are EGMs in one from two possible electrode configurations, namely, unipolar and bipolar. Unipolar EGMs are recorded by catheters using a single exploratory electrode in contact with the intracardiac tissue and another electrode used as reference or mass. Bipolar EGMs are recorded by using the difference between a given unipolar EGM and a close second unipolar EGM used as the reference or negative electrode. The information represented by bipolar EGMs mostly refers to the electrical activity that occurs close to the two catheter electrodes, whereas unipolar EGMs convey both local and distant activity. In electrophysiological studies, many of the criteria used for the arrhythmia localization are mainly established in terms of bipolar EGMs, where the electrophysiologists observe anomalies in the signal such as fragmentation, depolarization and repolarization duration, or signal amplitude [4].

ECGI systems provide the estimated potentials measured on the epicardium, which mainly correspond to unipolar EGMs. Many clinical criteria are based on bipolar EGMs from conventional catheters [5, 6], hence, the clinical validation and usefulness of ECGI may require its point potentials to be transformed into bipolar EGMs. However, the optimal configuration to estimate bipolar EGMs from a clinical point of view in ECGI systems has not been fully

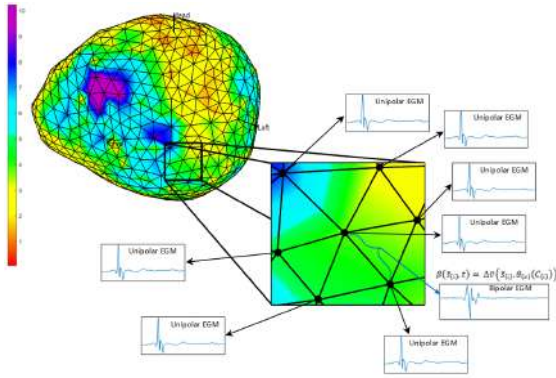


Figure 1. Unipolar EGM amplitude potential map, and representation of the different choices among the nearest neighbors of a central point to characterize its associated bipolar EGMs.

established. Therefore, in the present work, three Digital Signal Processing Operators (DSPOs) are analyzed in order to study their suitability to provide with the bipolar EGM associated to a spatial location on the heart, in terms of the voltage difference with its neighbor points. The scrutinized operators herein are the maximum-amplitude neighbor, the minimum-distance neighbor, and the random neighbor. For each of these DSPO, we analyzed the impact on the amplitudes of the estimated bipolar EGM, which is a basic property considered by electrophysiologists. For instance, it is widely accepted that a scar region usually has bipolar EGM peak lower than 1.5 mV. In addition, we also scrutinized the spatio-temporal consistency of bipolar EGMs in different regions of the cardiac tissue.

2 Problem Statement and Patient Data

In this work, we consider the closest neighbor points to a given one as possible candidates to calculate the bipolar EGM associated to that central point, as depicted in Fig. (1). We first analyzed the impact of the DSPO on the amplitudes of the estimated bipolar EGM, which is a basic property considered by electrophysiologists. For instance, it is widely accepted that a scar region usually has bipolar EGM peak lower than 1.5 mV. We subsequently analyzed the spatio-temporal consistency of bipolar EGMs in different regions of cardiac tissue. For this purpose, we propose here to use the so-called M-mode EGMs, i.e., spatio-temporal signal representations of the or EGMs along a line set of spatially proximal points on the epicardial geometry of the ECGI.

A bipolar EGM is calculated as

$$\Delta v(\bar{s}_i, \bar{s}_k, t) = v(\bar{s}_i, t) - v(\bar{s}_k, t), \quad (1)$$

Table 1. Possible configurations for the choice of the neighbor for characterizing the bipolar EGM associated to a given point i in the ECGI mesh.

DSPO		
θ_V	$\bar{s}_k = \theta_V(C_i)$, with	$\max_{k \in C_i} \{ v(\bar{s}_{\eta_i}, t_w) \}$
θ_d	$\bar{s}_k = \theta_d(C_i)$, with	$\min_{k \in C_i} \{ s_i - \bar{s}_{\eta_i} \}$
θ_r	$\bar{s}_k = \theta_r(C_i)$, with	$\text{rand}_{k \in C_i}$

where \bar{s}_i and \bar{s}_k are either two adjacent electrodes in the same catheter on the endocardium or epicardium surface, or two points in the corresponding cardiac mesh from ECGI modality. Then, the bipolar EGM can be expressed as

$$\begin{aligned} \beta(\bar{s}_i, t_w) &= \Delta v(\bar{s}_i, \theta_x(C_i), t_w) \\ &= v(\bar{s}_i, t_w) - v(\theta_x(C_i), t_w), \end{aligned} \quad (2)$$

where $\bar{s}_k = \theta_x(C_i)$ is the DSPO that selects the suitable closest neighbor point among C_i neighbors, and t_w is the observed time window. Note that subindex x denotes the different DSPO to be considered.

Patient Data. For the present study, we used patient number 7 from a database of 13 available from previous research at Cardiac Bioelectricity and Arrhythmia Center, provided with permission by Yoram Rudy's Lab at Washington University in St. Louis [7]. A 51-year-old patient was considered, who had a large transmural infarction that involved approximately two-thirds of the lower left ventricular wall. We used a mesh of the epicardium with 802 points, and for each point a unipolar EGM with a record of 9.77 s. To simplify the analysis we used a time window with $t_w = 1.22$ s corresponding to single heartbeat. The epicardial recordings had been previously reconstructed, and they were filtered out of high-frequency noise and baseline wander with custom software.

3 DSPO and EGM Amplitude

The following DSPOs were analyzed: (a) Maximum amplitude neighbor (θ_V); (b) Minimum distance neighbor (θ_d); (c) Random closest neighbors (θ_r). They can be seen in Table (1), together with their mathematical definitions. The statistical distributions of the EGM amplitudes that were obtained with each DSPO were compared in terms of their individual histograms. For each EGM, its amplitude was calculated as the peak-to-peak value.

Histogram Plot Comparative. In Fig. (2)(a), we can see the amplitude histograms calculated for each of the analyzed configurations. The red vertical line in the histogram represents the threshold value commonly used in the clinical practice in order to identify scarred regions from conducting regions, which is 1.5 mV [5]. With θ_V configuration, the histogram shows 3 different amplitude zones, namely, from 0 to about 1.5 mV, from 1.5 mV to about 4 mV, and larger than 4 mV. Accordingly, it values lower than the clinical threshold could be identified from scar or far field in the valves with this configuration. In the other two zones, we could identify an intermediate zone of damaged heart tissue, likely with conduction veins or edges of the scar, and a normal zone of cardiac tissue. For the cases of θ_d and θ_r , the histograms show two defined zones: The first one is between 0 and 1.5 mV, where the scar or the distant field of the valves can be identified, and where we find most of the EGM amplitudes; And the second one, greater than 1.5 mV, where peak-to-peak amplitude values decrease exponentially-like, and which could be identified as healthy tissue, but this should imply that most of the points correspond to non-healthy or far-field EGMs, which

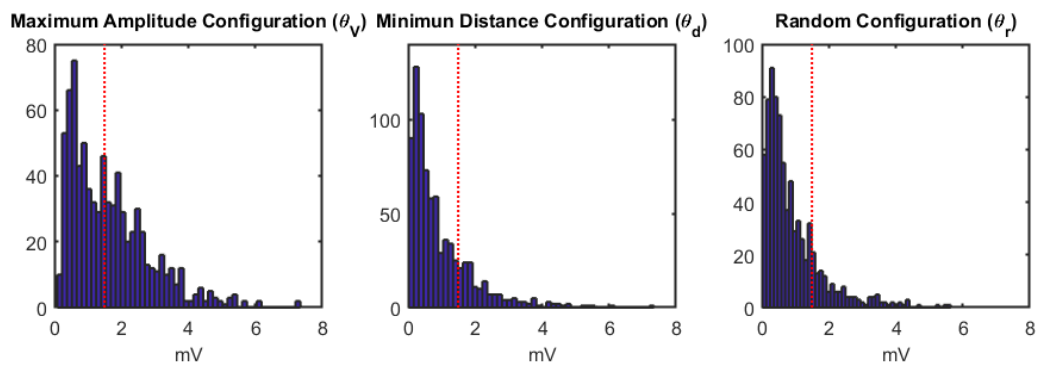


Figure 2. Analysis of the EGM statistical distribution, with EGM amplitudes for the studied configurations.

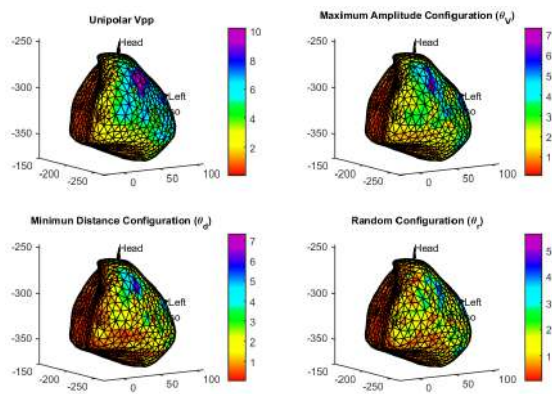


Figure 3. Potential maps for peak-to-peak amplitudes in unipolar EGM and for each studied bipolar EGM configurations.

is very unlikely.

Spatial Consistency of the Amplitude Maps. In Fig.(3) we can see the map of peak-to-peak amplitudes of patient 7 for the unipolar EGM and each of the configurations. For each configuration, the graph shows the different regions that are consistent with the patient physiology and pathology known substrate, namely, the right side, the zone of the valves, and the inferior part of the ventricle. The color scale of each map is adjusted to the maximum peak-to-peak amplitude of each of the configurations. In the unipolar EGM map, we can see that the scar zone in the lower left wall corresponds to the color of the smallest amplitudes, and the area of the valves also shows this color. In the lateral-upper wall of the ventricle, we can see a zone of high amplitude that degrades towards the apex and towards the lower zone of the ventricle, where the scar is located. In θ_V configuration, we can see a spatial consistency with respect to the unipolar EGM, which allows us to determine different zones in the cardiac tissue, and the scar zone can be clearly identified in the lower left wall, as well as in the valve zone. In θ_d configuration, we can see less similarity in the spatial consistency with respect to the unipolar EGM, with more zones of low amplitudes which seem to be confounded with the scar zone. In θ_r configuration, there is a markedly reduced spatial consistency with respect to the unipolar EGM, since very small amplitudes in the former appear in zones of higher amplitudes in the later, making ambiguous the scar zone.

Spatial Consistency on M-mode Lines. In order to study

the DSPO configuration previously pointed out as optimal, θ_V and θ_d , an additional analysis of M-modes was performed. The M-modes are representations that allow us to analyze the spatial consistency in a line of points in the mesh, which passes through different zones of the cardiac tissue. For each selected point, we represent its bipolar EGM consecutively and depending on the configuration of the operator that we have selected. This allows us to see the amplitude changes between the cardiac tissue zones and the amplitude changes of the bipolar EGM in each of these zones, and we can see which of the operator configurations is more faithful to the representation of the bipolar EGM signal in electrophysiology.

In Fig.(4), the first column represents the potential map, the second column represents M-mode of the bipolar EGMs along the white line in the map, the third column represents M-mode corrected using the correlation coefficient, and the last column represents the bipolar EGMs of the θ_V configuration. The dotted line begins at Point 82, located in the scar zone, and it extends through three other zones of the cardiac tissue until reaching Point 521 of the mesh, which is in a normal zone of the cardiac tissue. In the M-mode representation, the second column of the figure, we can see that there is a spatial consistency of the bipolar EGMs, which is smaller in the scar zone (the first bipolar EGMs) and its increases its amplitude as we approach the normal zone of the cardiac tissue. We can see this more clearly when we correct the bipolar EGM whose correlation coefficient with the previous one is negative and multiplying them by -1 , and as we can appreciate, this increases even more the spatial-temporal consistency. In addition, we can see in the fourth column of the figure that the maximum amplitude of the bipolar EGM is about 3 mV in the normal zone of the cardiac tissue. Also, we clearly see the R peaks and T waves in the EGMs that are outside the scar.

In the same way, the second panel of Fig.(4) represents the θ_d configuration. The starting and ending points of the mesh are the same as for the θ_V configuration. With respect to the spatial consistency of the M-modes, we see that in the scar zone we have the bipolar EGMs of lower amplitude and it grows as we move to the healthy tissue zone. The maximum amplitude of the bipolar EGM in a normal zone is approximately 2 mV and we can clearly see the R peaks and the T wave.

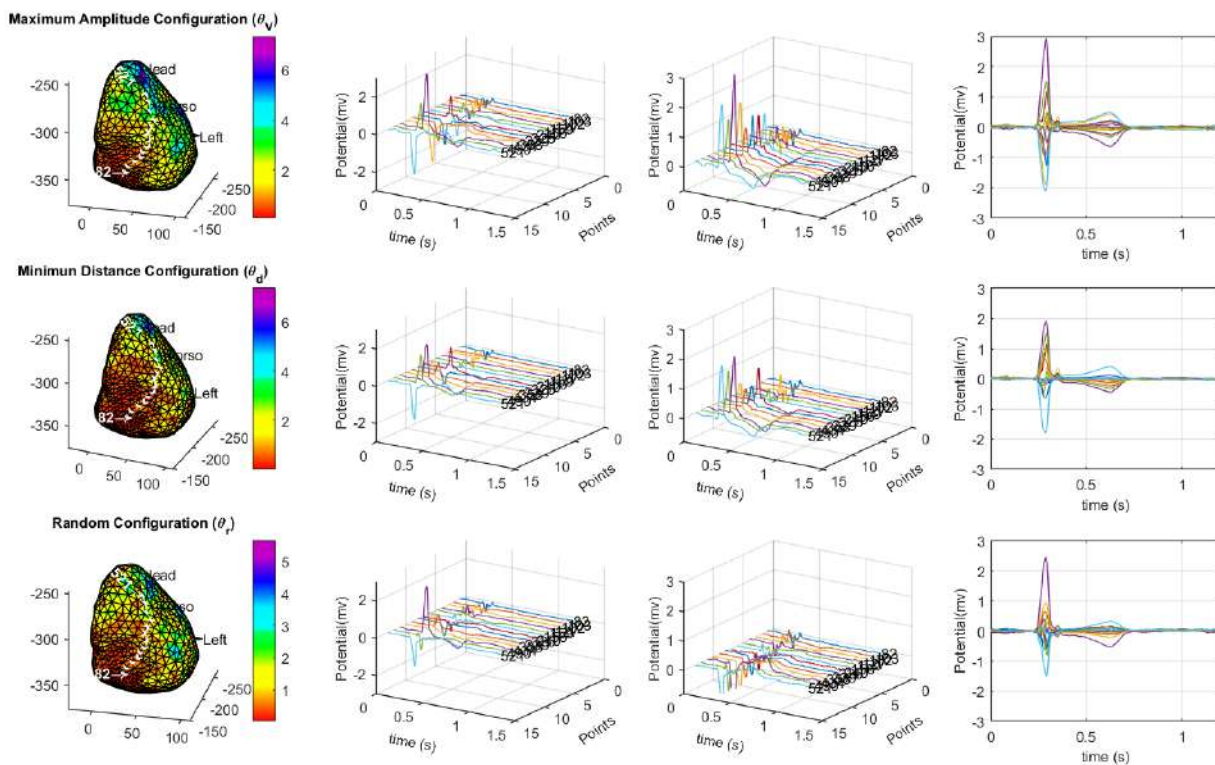


Figure 4. Line of points from epicardial scar to normal zone of cardiac tissue. In the M-mode, the bipolar EGMs can be seen using the θ_V and θ_d criterion. The θ_r is shown for comparison purpose.

4 Conclusions

In the present study, we have seen that both scrutinized configurations give us similar information, but the θ_V configuration is the one that provides better signal clarity, with a greater amplitude and a representation of the T wave much clearer than the θ_d configuration. Therefore, we can conclude that DSPO θ_V configuration is more robust in terms of bipolar EGM amplitude maps and their spatial consistency. Further studies are necessary to establish the appropriate configurations in terms of other highly clinical criteria, such as fragmentation and bipolar EGM morphology, and other previously used operators, as the time derivative, and other possible new ones.

Acknowledgments

Special Thanks to Prof. Yoram Rudy and his team (Ramya Vijayakumar, Christopher Andrews, Junjie Zhang and all from Rudy Laboratory), for providing the data and for their always kind support and encouragement. This work was partially supported by Research Grants FINALE and KERMES (TEC2016-75161-C2-1-R and TEC2016-81900-REDT) from Spanish Government.

References

[1] Y. Wang, P. S. Cuculich, J. Zhang, K. A. Desouza, R. Vijayakumar, J. Chen, M. N. Faddis, B. D. Lindsay, T. W. Smith, and Y. Rudy, "Noninvasive electroanatomic mapping of human ventricular arrhythmias with electrocardiographic imaging," *Science translational medicine*, vol. 3, no. 98, pp. 98ra84–98ra84, 2011.

[2] Y. Rudy, "Noninvasive electrocardiographic imaging of arrhythmogenic substrates in humans," *Circulation research*, vol. 112, no. 5, pp. 863–874, 2013.

[3] D. M. Mirvis, *Body surface electrocardiographic mapping*, vol. 82. Springer Science & Business Media, 2012.

[4] B. Campos, M. E. Jauregui, F. E. Marchlinski, S. Dixit, and E. P. Gerstenfeld, "Use of a novel fragmentation map to identify the substrate for ventricular tachycardia in postinfarction cardiomyopathy," *Heart Rhythm*, vol. 12, no. 1, pp. 95–103, 2015.

[5] M. Tokuda, U. B. Tedrow, K. Inada, T. Reichlin, G. F. Michaud, R. M. John, L. M. Epstein, and W. G. Stevenson, "Direct comparison of adjacent endocardial and epicardial electrograms: implications for substrate mapping," *Journal of the American Heart Association*, vol. 2, no. 5, p. e000215, 2013.

[6] P. Oosterhoff, V. M. Meijborg, P. M. van Dam, P. F. van Dessel, C. N. Belterman, G. J. Streekstra, J. M. de Bakker, R. Coronel, and T. F. Oostendorp, "Experimental validation of noninvasive epicardial and endocardial activation imaging," *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, vol. 9, no. 8, p. e004104, 2016.

[7] R. Vijayakumar, J. N. Silva, K. A. Desouza, R. L. Abraham, M. Strom, F. Sacher, G. F. Van Hare, M. Haïssaguerre, D. M. Roden, and Y. Rudy, "Electrophysiologic substrate in congenital long QT syndrome: noninvasive mapping with electrocardiographic imaging (ECGI)," *Circulation*, pp. 1936–43, 2014.

Validación técnica y clínica de sensores inerciales para la valoración del rango articular de codo y muñeca

V. Costa Cortez¹, R. Raya^{2,3}, O. Ramírez Velázquez³

¹ Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería, UPM, Madrid, España, v.costacortez@gmail.com

² Departamento Tecnologías de la Información, Universidad San Pablo CEU, Madrid, España, rayalopez.rafa@gmail.com

³ Werium Solutions, Madrid, España, {oscar.ramirez, rafael.raya}@weriumsolutions.com

Resumen

Los trastornos musculoesqueléticos constituyen un grupo de enfermedades con una alta incidencia entre la población. Una valoración precisa del rango de movilidad articular permite a los clínicos abordar un diagnóstico y tratamiento más eficiente. Hoy en día, el uso de sensores inerciales es una de las soluciones tecnológicas más innovadoras entre los instrumentos de medición diseñados para este propósito. El objetivo de este estudio fue la validación técnica y clínica del sistema de captura de movimiento de Werium Assistive Solutions™ para codo y muñeca. Este sistema, basado en tecnología inercial, es una innovadora herramienta capaz de medir objetivamente el rango articular. Se persiguió demostrar la validez y fiabilidad del dispositivo frente a goniometría, en un entorno clínico real. El estudio arrojó resultados significativos, con índices de correlación excelentes. Así, el sistema de captura de movimiento de Werium se propone como una extraordinaria herramienta de medición del rango articular, proporcionando precisión, adaptabilidad y confianza tanto a clínicos como a pacientes.

1. Introducción y objetivos

El rango de movimiento articular se define como la distancia, expresada en grados, que describe una articulación desde su posición neutral hasta el punto de máxima amplitud. Las afecciones musculoesqueléticas conllevan un daño y deterioro articular, viéndose el rango de movimiento generalmente disminuido. La prevención, valoración temprana y rehabilitación son cruciales para una óptima recuperación [1]. La goniometría continúa siendo el método más extendido para evaluar el grado de movilidad articular en valoraciones rutinarias principalmente por su portabilidad y bajo coste [2]. Sin embargo, los avances tecnológicos aplicados al análisis del movimiento proporcionan hoy en día nuevas alternativas más desarrolladas. Estas nuevas herramientas de medición, como la fotogrametría, son notablemente más precisas, pero su elevado coste y el tiempo requerido para la preparación y ejecución de un examen, dificultan su uso en un número considerable de clínicas [3].

Los sensores inerciales, hoy en día, son los instrumentos más innovadores en la detección y monitorización del movimiento humano. Su bajo coste, gran precisión, facilidad de uso y pequeño tamaño son algunas de las ventajas más competitivas que poseen sobre otros dispositivos [4]. El sistema de captura de movimiento de Werium, basado en el sensor inercial ENLAZA™, es un dispositivo diseñado conjuntamente por ingenieros y

fisioterapeutas con el objetivo de cubrir las necesidades de los facultativos en materia de evaluación y rehabilitación de las articulaciones. Este sistema representa un cambio ventajoso y significativo en el ámbito clínico. Ofrece una herramienta de valoración objetiva con la que cuantificar de forma sencilla y precisa el estado y evolución de los pacientes; cumpliendo con los requerimientos demandados por el personal sanitario.

Tras la validación clínica de este dispositivo para la zona cervical, algunas de las asociaciones médicas más distinguidas como The International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM) [5] o la Sociedad Española de Rehabilitación y Medicina Física (SERMEF) [6] difundieron importantes estudios de investigación referentes a dolor cervical con este dispositivo.

Con el propósito de respaldar científicamente este novedoso instrumento para la medición en otras articulaciones, se lleva a cabo el presente estudio cuyo objetivo es la validación técnica y clínica del sistema para codo y muñeca.

2. Desarrollo técnico

2.1. Descripción del sistema

El sistema de captura de movimiento diseñado por Werium Assistive Solutions™ para medir el grado de movilidad de todas las articulaciones se llama Promotion Capture™. Este sistema consta de dos sensores inerciales ENLAZA™ (hardware) y un entorno de software para la recogida y visualización de las mediciones de rango articular en los planos sagital, frontal y transversal. Las unidades inerciales se colocan, una en la parte distal (móvil) del segmento corporal y la otra en la parte proximal (fija); de forma que la articulación queda en la zona intermedia. La colocación de dos sensores permite detectar la actividad cinemática de cada segmento y, por lo tanto, proporcionar una medida precisa del rango total, sustrayendo la señal producida por movimientos de compensación en la parte proximal de la articulación. La conexión y envío de datos se realiza por medio de Bluetooth a un PC o periférico tipo Tablet. El dispositivo está formado principalmente por un acelerómetro, un giróscopo y un magnetómetro con los que mide orientación en las tres dimensiones (alrededor de los ejes X, Y y Z). Esta información es enviada a la aplicación informática (software), donde se procesa para devolver un cálculo preciso del rango articular.

El sistema de captura de movimiento de Werium tiene un doble objetivo: valorar y rehabilitar el rango articular. La valoración consiste en proporcionar al facultativo una visualización en tiempo real del rango de movimiento siguiendo un protocolo establecido, guiado por el sistema. En el caso de la rehabilitación, los objetivos son conseguidos a través de videojuegos y técnicas de biofeedback; procesos que incrementan la motivación del paciente y favorecen la adherencia al tratamiento. En ambos casos, evaluación y rehabilitación, el software ofrece un informe completo de la sesión que ha tenido lugar. Esta funcionalidad aporta una gran ventaja al clínico, proporcionándole una visión objetiva del estado articular del paciente, lo cual ayuda sustancialmente a tomar decisiones sobre el tratamiento más apropiado.

2.2. Algoritmos para la estimación del rango de movilidad articular

Este sistema, al igual que muchos dispositivos inerciales, utiliza ángulos de Euler para definir la orientación de un cuerpo en el espacio, indicando los grados de rotación alrededor de los ejes X, Y y Z. Una de las mayores dificultades de este método reside en estudiar la secuencia de rotación más apropiada alrededor de dichos ejes. En este estudio se buscó establecer un convenio de ejes o secuencia de rotación específico para codo y muñeca, que además superase posibles efectos negativos derivados de rotaciones sucesivas de ejes, como el *Gimbal Lock*. Para ello se siguieron las recomendaciones de International Society of Biomechanics (ISB) [7,8]. Estas directrices se aplicaron al sistema de estudio, determinándose que la secuencia de rotación idónea para medir codo y muñeca era $X_s Z_s Y_s$. En consecuencia, se determinaron las ecuaciones matemáticas, basadas en matrices de rotación, que relacionaron los distintos sistemas de referencia para definir la orientación del sensor o ángulos de Euler a cada instante (Figura 1).

$$R_{GS} = (R_G)^{-1} * R_S$$

$$\alpha = \text{atan}(-R_{GS(2,3)} / R_{GS(2,2)})$$

$$\beta = \text{asin}(R_{GS(2,1)})$$

$$\gamma = \text{atan}(-R_{GS(3,1)} / R_{GS(1,1)})$$

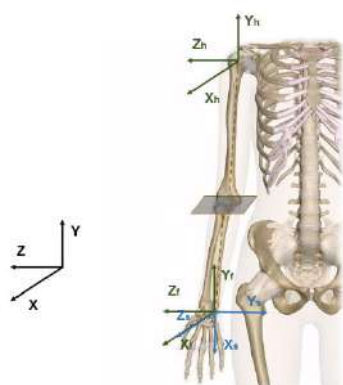


Figura 1. Definición del sistema de coordenadas global, local (f,h) y del sensor(s) según las recomendaciones ISB.

2.3. Protocolo de medición

Previo a la validación clínica, se definió un protocolo de medición en el que fueron contemplados los pasos a seguir para una precisa colocación de los sensores en codo y muñeca, los movimientos a realizar con cada articulación y los aspectos técnicos a tener en cuenta para un correcto uso del sistema. Así mismo, la posición neutral o de partida para realizar cada movimiento. Con este proceder, se estaba dotando al producto con claras instrucciones de uso que tuvieron en cuenta requisitos técnicos y clínicos para proporcionar una medición fiable y a la vez cómoda para el paciente.

En el caso de una evaluación de codo, el sensor distal se colocaría a 2 cm de las estiloides radial-cubital, en la parte posterior del antebrazo. El sensor de la parte proximal iría situado en la metáfisis humeral, en la parte lateral externa del brazo (Figura 2). Para una evaluación de muñeca, el sensor distal estaría posicionado en la región media metacarpiana, mientras que el sensor proximal se colocaría en la parte posterior del antebrazo, por detrás de las estiloides.

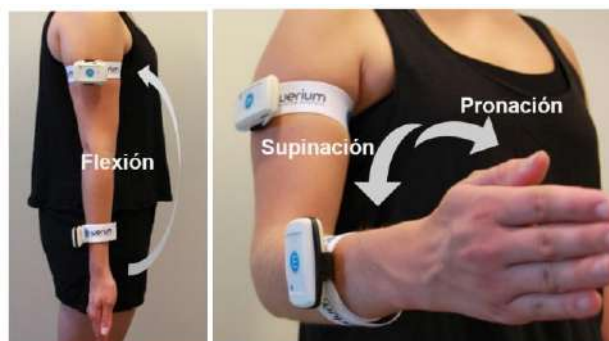


Figura 2. Colocación de los sensores y posición neutral para una valoración de codo.

3. Pruebas clínicas

3.1. Participantes e instrumentos

En este estudio participaron 29 sujetos asintomáticos. Los criterios de inclusión contemplaron hombres y mujeres de entre 20 y 40 años, con un índice de masa corporal normal ($< 25 \text{ kg/m}^2$) y sin dolor articular en codo y/o muñeca. Los criterios de exclusión fueron embarazo, historia clínica relacionada con dolor articular en codo y/o muñeca durante los últimos 8 meses y deformidad en algunas de las articulaciones a evaluar. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética y todos los participantes tuvieron que firmar un consentimiento informado. Para poder llevar a cabo estas pruebas, además de los sujetos participaron dos fisioterapeutas y una persona encargada de los aspectos técnicos.

Los instrumentos utilizados para la experimentación clínica fueron un goniómetro universal y el sistema de captura de movimiento de Werium. El goniómetro escogido fue modelo KaWe Winkelmesser (precisión de $\pm 2^\circ$), fabricado en plástico, cuya adaptabilidad permitió realizar las mediciones en ambas articulaciones. El sistema

de Werium está formado por dos sensores inerciales, con una precisión de $\pm 1^\circ$ y el software Promotion Capture™, con el que se recogieron los datos.

3.2. Protocolo experimental

Antes de empezar con la fase experimental, se tomó nota del sexo, edad, altura y peso del sujeto en una base de datos. Se le preguntó por su brazo dominante, que fue con el que se realizó la prueba. Ambos fisioterapeutas realizaron una exploración de la anatomía del sujeto para marcar con un rotulador dermatográfico los puntos de referencia de codo y muñeca, que les servirían para posicionar el goniómetro. Se le explicó al participante los movimientos a realizar y el número de repeticiones de cada movimiento. No hubo una fase de calentamiento explícitamente definida. En el caso del codo se realizaron los movimientos de flexión, pronación y supinación. En el caso de muñeca, flexión, extensión, desviación radial y desviación cubital. Se ejecutaron tres repeticiones de cada movimiento (para trabajar con un promedio), calibrando los sensores entre repeticiones, hasta llegar al máximo rango de movimiento articular que el sujeto pudiera realizar de forma activa. El orden con el que los examinadores realizaron las mediciones fue aleatorizado. El evaluador colocó el goniómetro y los sensores en la articulación a valorar y posicionó al sujeto en el punto de partida o posición neutra del movimiento que fuera a ejecutar. En ese instante, se le indicó al técnico que ejecutara la función de calibración de los sensores en el software. El sujeto ejecutó el movimiento correspondiente y el examinador realizó la lectura del máximo rango articular con el goniómetro. Mientras tanto, el técnico siguió la evolución de los grados de movimiento de la articulación medidos por los sensores, en el software. Se anotó en una plantilla de recogida de datos los grados de movilidad indicados por el sensor y el goniómetro. Una vez completada la evaluación de todos los movimientos de una articulación, se retiraron los sensores del cuerpo del paciente y el segundo examinador repitió el mismo proceso.

3.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software IBM® SPSS Statistics versión 25. El estudio fue dirigido a estimar el grado de correlación entre las variables comparando los datos recogidos de las mediciones de los participantes con ambos instrumentos. En primer lugar, se comprobó que todas las variables presentaran normalidad en su distribución mediante el test de Shapiro-Wilk. Se fijó un nivel de significancia de $p < 0,05$. Se llevó a cabo un análisis descriptivo calculando la media y desviación típica de las variables recogidas. Una vez realizado este análisis, se procedió a demostrar la validez y fiabilidad del sistema de captura de movimiento de Werium. Se calculó el coeficiente de determinación r^2 y el coeficiente de correlación intraclase (CCI), comparando los valores de mediciones realizadas con el goniómetro y con los sensores inerciales, para estudiar la validez. Estos coeficientes varían entre 0 y 1, siendo 0 correlación inexistente y 1 perfecta correlación. El grado de correlación según los valores de CCI se interpretaron en base a los siguientes intervalos: $0,00 <$ pobre; $0,00-0,20$ leve; $0,21-0,40$

imparcial; $0,41-0,60$ moderado; $0,61-0,80$ sustancial y $0,81-1,00$ excelente [9]. El estudio de fiabilidad estuvo compuesto por la fiabilidad intra e inter examinador. Mientras la fiabilidad intraexaminador estudia la coherencia entre mediciones realizadas por un evaluador en dos sesiones distintas, la fiabilidad interexaminador se enfoca en comparar las mediciones de dos evaluadores en la misma sesión. En ambos casos, fueron calculados estos coeficientes de correlación, pero esta vez comparando cada instrumento consigo mismo para evaluar su repetitividad. Adicionalmente se calcularon el error estándar de la medida (EEM) y el mínimo cambio detectable (MCD).

4. Discusión de resultados

El análisis estadístico descriptivo arrojó valores de rango articular similares midiendo con el goniómetro y con el sensor, tanto para la evaluación de codo como para la de muñeca. Adicionalmente se concluyó que todos los valores de rango articular estaban dentro de la normalidad, comparados con estudios bibliográficos cuidadosamente seleccionados.

En el estudio de validez del sistema evaluando el codo, el CCI varió entre 0,78 y 0,99 (Tabla 1). Por lo tanto, entre sustancial y excelente. Los valores más bajos de estos coeficientes se encontraron en pronación. Este hecho se debe a la gran complejidad artrocinemática que implica la pronación, dificultando en ocasiones una correcta colocación de instrumentos de medida y su lectura. Además, se observó que, al realizar este movimiento, en los casos en que los sujetos tenían mayor flexibilidad articular o había un gran volumen de músculo/grasa, el sensor no era capaz de seguir con precisión la rotación de los huesos del antebrazo. Estas situaciones podrían corregirse, en cierta medida, con el uso de silicona antideslizante impresa en la cara interna de la cincha en la que se sujeta el sensor, teniendo así un mayor contacto entre el dispositivo y la piel. La reducción del tamaño del sensor inercial, para que pueda colocarse de forma más estable cerca de las estiloides radial y cubital, produciría así mismo mejoras sustanciales ante estas situaciones. En el caso de la muñeca, los coeficientes de correlación variaron entre 0,82-0,99; lo que se tradujo en un excelente acuerdo entre las mediciones tomadas con el sensor y el goniómetro. No hubo problemas de deslizamiento entre la cincha del sensor y la piel.

	Exam A	Exam B	Exam A	Exam B
	CCI Sesión 1		CCI Sesión 2	
Flexión	0,90	0,90	0,89	0,95
Pronación	0,84	0,91	0,78	0,91
Supinación	0,94	0,99	0,97	0,94

Tabla 1. Resultados CCI en evaluación de codo.

En referencia al estudio de fiabilidad, se observó que el análisis intraexaminador del codo evaluando con el goniómetro arrojó CCI que oscilaron entre 0,62 y 0,91. Estos valores se compararon con estudios de Greene y Wolf, y Boone y Azen, como bibliografía de referencia. [10,11]. Se observó que la fiabilidad podría ser mejorada

realizando modificaciones sobre ciertos factores. Se propuso que en validaciones futuras sea siempre el mismo examinador el que localice y señale los puntos anatómicos. Además, incluir una fase de calentamiento previo de 5-10 minutos, previo a la fase de mediciones. En el caso de los CCI medidos por el sensor, estos oscilaron entre 0,79 y 0,96. Dichos resultados se consideraron entre sustanciales y excelentes. Además, estos valores eran superiores a los obtenidos con el goniómetro, probando una mayor fiabilidad. El estudio interexaminador reportó muy buenos resultados en el caso del sensor, con valores de CCI que variaron entre 0,94 y 0,97. Con respecto al análisis intraexaminador de la muñeca, los valores de CCI reportados tanto para goniómetro como para sensor estuvieron comprendidos entre 0,81 y 0,93. El análisis interexaminador de la muñeca, arrojó valores de CCI que oscilaron entre 0,93 y 0,99 midiendo con los sensores (Tabla 2). Estos resultados fueron considerados excelentes y prueban una vez más una mejor fiabilidad del sensor frente al goniómetro.

Los valores de EEM y MCD₉₀ tanto para el codo como para la muñeca fueron más bajos en el caso del sensor que en el caso del goniómetro, más pronunciadamente en el análisis interexaminador. Esto demostró una mayor precisión del sensor en comparación con el goniómetro como instrumento de medición.

	Goniómetro			Sensor		
	CCI	EEM	MCD	CCI	EEM	MCD
Sesión 1						
Flexión	0,95	3°	8°	0,97	2°	6°
Extensión	0,92	4°	9°	0,93	3°	7°
Desv. radial	0,92	2°	6°	0,96	2°	4°
Desv. cubital	0,92	3°	7°	0,95	3°	6°
Sesión 2						
Flexión	0,97	3°	7°	0,99	1°	3°
Extensión	0,94	4°	8°	0,97	2°	5°
Desv. radial	0,97	2°	4°	0,97	2°	4°
Desv. cubital	0,95	2°	6°	0,96	2°	6°

Tabla 2. Resultados CCI, EEM y MCD en evaluación de muñeca correspondientes al análisis interexaminador.

5. Conclusiones

El sistema de captura de movimiento de Werium es una herramienta innovadora capaz de medir de forma precisa el rango articular. Valiéndose de tecnología inercial, ofrece un producto con el que el usuario puede interactuar fácilmente con el ordenador no solo para la valoración sino para la rehabilitación del rango articular.

Este estudio tuvo por objetivo la validación de este sistema desde un punto de vista técnico y clínico. La parte técnica aportó sólidas bases científicas sobre las que desarrollar algoritmos matemáticos para una medición precisa de los grados de movilidad de codo y muñeca. Mientras tanto, la parte clínica consistió en la realización de pruebas experimentales en un entorno real para comprobar la

validez de dicho sistema. Tras el cumplimiento satisfactorio de dichos objetivos, puede enunciarse que el sistema de captura de movimiento de Werium probó ser una herramienta válida y fiable para la medición del rango articular de codo y muñeca. Destaca sobre todo la fiabilidad interexaminador de este sistema, muy cuestionada habitualmente en herramientas de medición, y que fue excelente. Adicionalmente, puede afirmarse que su facilidad de uso y precisión permite que la adquisición de datos no sea tan dependiente de la experiencia del facultativo localizando referencias anatómicas o realizando la lectura de las mediciones, tal y como sucede con otros instrumentos de medición.

Referencias

- [1] Página web de American Physical Therapy Association (APTA). <http://www.apta.org> (Consultada: Mayo 2018).
- [2] Norkin CC, White J, Malone TW. Measurement of Joint Motion A Guide to Goniometry. (4th ed.) F.A. Davis Company, 2009 (ISBN: 9780803620667).
- [3] Ey-Chmielewska H, Chrusciel-Nogalska M, and Fraczak B. Photogrammetry and Its Potential Application in Medical Science on the Basis of Selected Literature. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, vol 24, 4, 2015, pp 737-741 (ISSN 1899-5276).
- [4] Ahmad N et al. Reviews on Various Inertial Measurement Unit (IMU) Sensor Applications. *International Journal of Signal Processing Systems*, vol 1, 2, 2013, pp 256-262 (DOI 10.12720).
- [5] Martín Castillo E. Demostrar que el dispositivo Werium aporta información eficaz para la evaluación y el diseño de métodos de intervención fisioterápicos específicos en los pacientes con cervicalgia. *Congreso SERMEF 2018*.
- [6] Martín Castillo E. Usefulness of werium dispositive for designing the most effective method of intervention in patients with neck pain: A pilot study. *Congreso Physical and Rehabilitation Medicine Congress 2018*.
- [7] Wu G et al. ISB recommendation on definitions of joint coordinate systems of various joints for the reporting of human joint motion—Part II: shoulder, elbow, wrist and hand. *J. Biomech.*, vol 38, 5, 2005, pp 981-992 (DOI 10.1016).
- [8] Wu G and Cavanagh PR. ISB recommendations for standardization in the reporting of kinematic data. *J. Biomech.*, vol 28, 10, 1995, pp 1257-1261 (PMID 8550644).
- [9] Landis JR and Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 1977, pp 159-174 (PMID 843571).
- [10] Greene BL and Wolf SL. Upper extremity joint movement: comparison of two measurement devices. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, vol 70, 4, 1989, pp 288-290 (PMID 2930342).
- [11] Boone DC et al. Reliability of goniometric measurements. *Phys. Ther.*, vol 58, 11, 1978, pp 1355-1360 (PMID 704684).

Diagnóstico del Ritmo Cardíaco durante la Resucitación Cardiopulmonar Administrada mediante una Banda de Distribución de Carga

I. Isasi Liñero¹, U. Irusta Zarandona¹, E. Aramendi Ecenarro¹, Jan-Åge Olsen², Lars Wik³

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

² Departamento de oncología, Hospital Universitario de Oslo, Oslo, Noruega, {janao}@janao.info

³ Norwegian National Advisory Unit on Prehospital Emergency Medicine (NAKOS), Hospital Universitario de Oslo, Oslo, Noruega, {Lars.wik}@medisin.uio.no

Resumen

Las compresiones torácicas (CTs) administradas durante la resucitación cardiopulmonar (RCP) mediante una banda de distribución de carga (LDB en inglés) inducen artefactos en el ECG que interfieren en el diagnóstico de los algoritmos de decisión shock/no-shock implementados en los desfibriladores. Esto obliga al rescatador a detener la terapia RCP reduciendo la probabilidad de supervivencia del paciente. El objetivo de este trabajo es diseñar un método que diagnostique con precisión el ritmo durante el uso de una LDB evitando así tener que interrumpir la terapia. El método se compone de un filtro de supresión de artefacto basado en un algoritmo recursivo de mínimos cuadrados (RLS) seguido de un algoritmo de decisión shock/no-shock basado en técnicas de aprendizaje automático. Se usó una base de datos compuesta por 235 ritmos desfibrilables y 1451 no-desfibrilables adquiridos de pacientes en parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria (PCREH). Los ritmos de los pacientes fueron anotados en intervalos libres de artefacto. Los diagnósticos shock/no-shock obtenidos mediante el algoritmo de decisión fueron comparados con las anotaciones del ritmo para obtener la Sensibilidad (Se), Especificidad (Sp) y precisión balanceada (BAC) de la solución. Los resultados obtenidos fueron: 91.6% (Se), 95.4% (Sp) y 93.5% (BAC).

1. Motivación

La desfibrilación precoz y la resucitación cardiopulmonar (RCP) mediante compresiones torácicas (CTs) y ventilaciones, son factores clave para la supervivencia del paciente en parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria (PCREH) [1]. Las guías de soporte vital avanzado recomiendan minimizar las interrupciones en las CTs durante la RCP para incrementar la probabilidad de una desfibrilación exitosa [1]. Desafortunadamente, en la práctica actual, es necesaria la interrupción de la RCP para un diagnóstico fiable de los algoritmos de decisión shock/no-shock implementados en los desfibriladores, ya que, la actividad mecánica de las CTs induce artefactos en el ECG.

La estrategia principal para conseguir un escenario de análisis de ritmo continuo sin interrupciones en la terapia RCP, ha consistido en un filtrado adaptativo del artefacto seguido de un algoritmo de decisión shock/no-shock. Sin embargo, la mayoría de los algoritmos de decisión

shock/no-shock utilizados en este planteamiento han sido originalmente diseñados para diagnosticar ECGs libres de artefacto y no para diagnosticar ECGs previamente filtrados que pueden contener residuos del artefacto. Esta es la razón principal por la cual los métodos de diagnóstico actuales no proporcionan un análisis fiable del ritmo durante CTs [2]. Recientemente, un nuevo estudio ha demostrado que los algoritmos de decisión shock/no-shock diseñados para clasificar el ECG en presencia de residuos de filtrado incrementan substancialmente el rendimiento de métodos previos [3].

La mayoría de los métodos de análisis de ritmo se han dedicado a la RCP manual, sin embargo, los dispositivos mecánicos de compresión torácica son cada vez más utilizados en el ámbito de la resucitación. En la actualidad existen dos tipos de compresores automáticos: pistones accionados neumáticamente como el LUCAS 2 (Physio-Control Inc/ Jolife AB) y bandas de distribución de carga como el AutoPulse (Zoll Circulation).



Figura 1. Dos tipos de compresores automáticos: LUCAS-2 (izquierda) y AutoPulse (derecha).

En los dos últimos años, se han desarrollado varios métodos que analizan el ritmo durante CTs administradas mediante el dispositivo LUCAS 2 [4-6]. Estos estudios utilizan filtros adaptativos para suprimir el artefacto y realizan el diagnóstico del ritmo basándose en algoritmos de shock/no-shock comerciales. Una vez más, este enfoque no cumple con las especificaciones de la Asociación Americana del corazón para un diagnóstico fiable del ritmo. Respecto al dispositivo AutoPulse, las características del artefacto analizadas en [7] pronostican

un filtrado del artefacto difícil. En efecto, el artefacto originado por el dispositivo AutoPulse, presenta un mayor número de armónicos que el manual y de mayor amplitud que el LUCAS 2 [4,7].

Este estudio propone un método para un análisis fiable del ritmo durante las compresiones administradas por el dispositivo AutoPulse. Se compone de un filtro basado en un filtro recursivo de mínimos cuadrados (RLS, Recursive-Least-Squares) para suprimir el artefacto y un algoritmo de decisión shock/no-shock basado en Máquinas de Vector Soporte (SVM, Support Vector Machines) diseñado para diagnosticar el ritmo después del filtrado.

2. Materiales

El conjunto de datos utilizado en este trabajo fue extraído de un ensayo clínico (*“Circulation Improving Resuscitation Care”*, CIRC) llevado a cabo entre Marzo de 2009 y Enero de 2011 en tres zonas Estadounidenses (The Fox Valley, Hillsborough, Houston) y dos zonas Europeas (Viena, Nijmegen) [8]. El objetivo de este estudio fue comparar la efectividad de la RCP administrada mediante el dispositivo AutoPulse frente a la RCP administrada manualmente en términos de supervivencia. Las señales ECG y impedancia torácica (IT) adquiridas mediante parches de desfibrilación del LifePak 12 o 15 (Physio-Control, Redmond, WA) fueron exportadas a Matlab y remuestreadas a 250 Hz. El ECG fue limitado en banda 0.5-40 Hz mediante un filtro Butterworth de orden 8.

La base de datos del estudio consta de 1686 segmentos de 22 s de duración pertenecientes a 362 pacientes en PCREH atendidos mediante el dispositivo AutoPulse. Los segmentos contienen un intervalo inicial de 16 s, durante CTs, utilizado para desarrollar nuestra solución seguido de un intervalo de 6 s, libre de artefacto, utilizado para anotar el ritmo subyacente del paciente. En la figura 1 se muestra un ejemplo de los segmentos de la base. La base de datos final se compone de 235 ritmos desfibrilables, fibrilación ventricular (FV), y 1451 no-desfibrilables, 677 asistolias (AS) y 774 ritmos organizados (OR).

3. Métodos

3.1. Filtrado del artefacto

Para suprimir el artefacto RCP se propone un filtro adaptivo RLS para la eliminación de interferencias periódicas [9]. En este método el artefacto debido a compresiones torácicas, s_{ct} , se modela como una serie de

Fourier de N términos de frecuencia fundamental igual a la frecuencia de compresión del dispositivo AutoPulse, $f_0 = 1.33$ Hz:

$$s_{ct}(n) = \sum_{k=1}^N a_k(n) \cos(k2\pi f_0 n T_s) + b_k(n) \sin(k2\pi f_0 n T_s) \quad (1)$$

El filtro RLS estima los coeficientes $a_k(n)$ y $b_k(n)$ en el tiempo y resta el artefacto estimado, \hat{s}_{ct} , del ECG corrupto, s_{cor} , para obtener el ECG filtrado, \hat{s}_{ecg} , tal y como se muestra en la figura 1. Los coeficientes son calculados adaptativamente, de forma que en cada iteración se minimice el error entre el ECG corrupto y el ECG estimado en los armónicos de la frecuencia de compresión, f_0 . Una descripción detallada del filtro puede encontrarse en [5].

En el filtro RLS existen dos parámetros configurables: el número de armónicos, N , que modelan el artefacto, y el factor de olvido, λ , que ofrece un compromiso entre la capacidad de adaptación y la estabilidad del filtro. El valor de N y λ fueron fijados a 31 y 0.988, respectivamente. Estos valores se corresponden con la configuración del filtro óptimo cuando su rendimiento es medido mediante un algoritmo de decisión shock/no-shock comercial (estrategia clásica).

3.2. Extracción de parámetros

Se extrajo un conjunto de 61 parámetros diseñados para discriminar ritmos desfibrilables y no-desfibrilables. La extracción de parámetros se llevó a cabo en el intervalo 4-12 s (intervalo resaltado en la figura 1), los primeros 4 s se dejaron de lado para evitar transitorios del filtro RLS. De los 61 parámetros 59 han sido exhaustivamente estudiados y descritos en el contexto de la PCREH [10-12], mientras que dos de ellos se han diseñado para este trabajo (Npeak, SkewSlp). Los parámetros agrupados por dominio de análisis son los siguientes:

1. Dominio del tiempo: *Threshold Crossing Interval* (TCI) y *Threshold Crossing Sample Count* (TCSC); *Standard Exponential* (Exp) y su versión modificada (Expmod); *Mean Average Value* (MAV); tres parámetros (count1, count2, count3) calculados a partir de los valores absolutos obtenidos de la salida de un filtro paso banda (frecuencia central de 14.6 Hz y ancho de banda a 3 dBs de 3.5 Hz) [10]; el número de picos de tipo-QRS (Npeak).

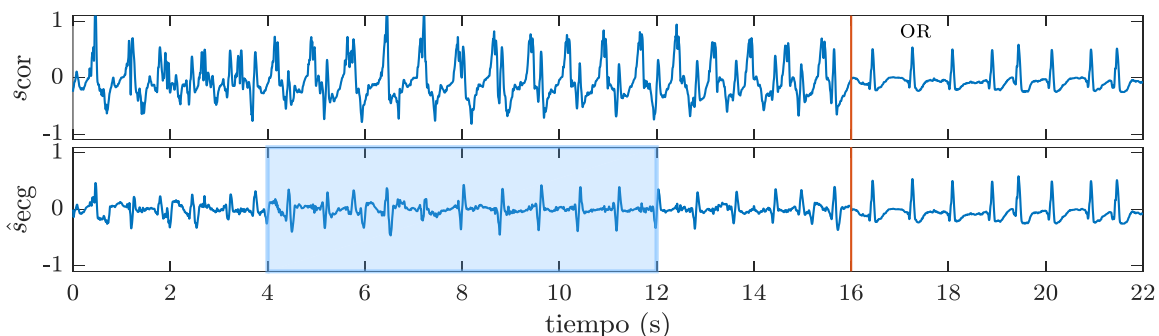


Figura 2. Un episodio de 22 s de duración de un paciente con ritmo organizado (OR), antes del filtrado (panel superior) y después del filtrado (panel inferior). Los primeros 16 s del panel superior muestran el ECG durante las compresiones. Los últimos 6 s muestran el ritmo subyacente del paciente en un intervalo sin compresiones. El panel inferior muestra como el filtrado revela el ritmo del paciente.

2. **Dominio espectral:** *VF filter* (vFleak), el primer momento espectral normalizado (M); parámetros (A1, A2, A3, x3, x4, x5) para calcular la proporción de energía concentrada en diferentes bandas de frecuencia; el rango de amplitud alrededor de la línea isoelectrónica que contiene una cierta proporción de las muestras (bWT); el ancho de banda que contiene cierta proporción de la potencia total del ECG (bW) [10].
3. **Dominio complejo:** *Complexity Measure* (CM); la frecuencia (Frqbin), la kurtosis (Kurt), el área (abin) y la covarianza (CVbin) de una señal binaria extraída a partir del ECG; *Phase Space Reconstruction* (PSR); Transformada de Hilbert (HILB); *Sample Entropy* [10]; *Fuzzy Entropy* [12].
4. **Dominio de la pendiente:** el percentil 10 (x1), el número de picos (x2) y la asimetría estadística de la distribución (SkewSlp) de la señal de pendiente; la proporción del tiempo en el que la señal de pendiente está por debajo de un determinado umbral (bCP) [10].
5. **Dominio Wavelet:** se calcularon varios parámetros basados en la Descomposición Wavelet Discreta (DWT) del ECG: IQR (d_3-d_7), Var (d_3-d_7), primer cuartil de d_3-d_7 , (FQ (d_3-d_7)), IQR ($s(n)$), IQR ($\hat{s}(n)$), IQR ($\check{s}(n)$), $\mu_{2-4,s}$, $\mu_{2-4,\hat{s}}$, a_{1-4} and σ_v^2 [11]; parámetro Li [10].

3.3. Arquitectura y evaluación del modelo

Se utilizó una arquitectura de validación cruzada anidada para la selección de parámetros y la optimización y evaluación del modelo. Tanto en el bucle interno como en el externo, se empleó un esquema de validación cruzada de 5 iteraciones (5-fold CV). El bucle interno se empleó para la selección de variables, el externo para la selección de hiperparámetros de la SVM. Además, las particiones o folds se crearon de forma que las prevalencias de los ritmos coincidieran (al menos en un 85%,) con las prevalencias de los ritmos desfibrilables y no desfibrilables observados en todo el conjunto de datos. Los diagnósticos del algoritmo de decisión shock/no-shock fueron comparados con las anotaciones de ritmo para obtener las siguientes métricas de rendimiento: proporción de ritmos desfibrilables correctamente identificados (Sensibilidad, Se), proporción de ritmos no-desfibrilables correctamente identificados (Especificidad, Sp), precisión balanceada (BAC) calculada como la media entre la Se y la Sp y la precisión total (Acc). Los resultados fueron comparados con aquellos obtenidos mediante la estrategia clásica del análisis de ritmo durante RCP: una etapa de filtrado seguido de un algoritmo de decisión shock/no-shock comercial [13] diseñado para clasificar ECGs libres de artefacto.

3.4. Selección de parámetros

Para la selección de parámetros llevado a cabo en el bucle interno, se utilizó un clasificador LDA (*Linear Discriminant Analysis*) y una estrategia de búsqueda PTA (*plus l- take away r*). Concretamente, se adoptó una estrategia PTA (4,3) hasta seleccionar los 12 parámetros más relevantes [11]. Se estableció la maximización del BAC como criterio para la selección de parámetros.

3.5. Algoritmo de decisión shock/no-shock

Se utilizó una máquina de vectores de soporte (SVM) con función de base radial gaussiana para la decisión shock/no-shock. El kernel gaussiano tiene dos hiperparámetros que optimizar [14]: γ y C , la anchura del kernel y la flexibilidad del límite de decisión, respectivamente. Los valores de C y γ que maximizaban el BAC en el bucle externo se determinaron mediante el método *logarithmic grid search* realizado en los rangos, $10^{-1} < C < 10^{1.5}$ y $10^{-3} < \gamma < 10$. Este proceso se repitió sobre 50 particiones aleatorias para estimar la distribución estadística de las métricas de desempeño y los parámetros óptimos del modelo SVM. Las distribuciones serán reportadas como media (95% IC, intervalo de confianza).

4. Resultados

La configuración óptima media (C/γ) del clasificador SVM para las 50 repeticiones aleatorias de los 5-fold CV externos fue 11.7/0.02. Esta configuración junto con los 12 parámetros seleccionados en cada bucle interno conduce a las siguientes distribuciones de Se, Sp, BAC y Acc: 89.3% (87.7-91.1), 94.0% (92.7-95.3), 91.6% (90.5-92.7) y 93.3% (92.2-94.5).

La tabla 1 muestra los parámetros utilizados en el algoritmo de decisión ordenados en función al número de veces que fueron seleccionados (N) en las 50 repeticiones aleatorias.

Feature	N	Feature	N
Npeak	249	FQ (d_3)	80
bCP	246	σ_v^2	67
FuzzEn	137	TCI	66
Vfleck	109	SkewSlp	61
IQR (d_7)	109	IQR (d_2)	60
SamEn	98	Var (d_6)	59
IQR (d_3)	87	bW	57

Tabla 1. Los parámetros utilizados en el algoritmo de decisión en función de N , número de veces que fueron seleccionadas en las 50 particiones aleatorias.

Entrenamos el clasificador de nuevo utilizando las k características más seleccionadas (Tabla 1) siguiendo el mismo procedimiento que el explicado en la sección 3.3, los resultados se reportan en la figura 3. Los requisitos de rendimiento de la Asociación Americana del corazón (AHA: Se>90% y Sp>%95) se cumplen utilizando tan sólo 6 características. Puede decirse que en este punto ($k = 6$) se obtiene también el mejor compromiso entre la dimensionalidad y el rendimiento del modelo (el BAC se estabiliza), aunque los mejores resultados se obtienen para $k = 11$. En el punto óptimo las distribuciones de Se, Sp, BAC y Acc son 91.6% (90.1-92.4), 95.4% (94.7-96.4), 93.5% (92.9-94.0) y 94.9% (94.3-95.7).

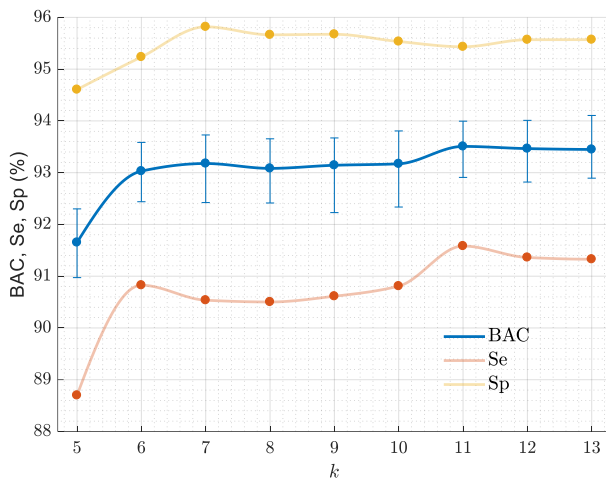


Figura 3. Distribución de las métricas de desempeño en función del número de características k usadas en la SVM. La gráfica muestra los valores medios de Se, Sp y BAC y los percentiles 2.5-97.5 para el BAC.

Esta es una mejora considerable con respecto al uso del filtrado RLS seguido de un algoritmo de decisión shock/no-shock comercial (estrategia clásica), que dio como resultado un Se, Sp, BAC y Acc de 91.5%, 88.5%, 90.0% y 88.9%, respectivamente.

5. Discusión

Este trabajo introduce un nuevo método para un análisis fiable del ritmo durante CTs administradas mediante el dispositivo AutoPulse. Consiste en un filtro adaptativo RLS diseñado para suprimir el artefacto RCP seguido de un algoritmo de decisión shock/no-shock que combina múltiples características del ECG filtrado con clasificadores de aprendizaje automático. Los resultados muestran que el mejor BAC (93.5%) se consigue utilizando 11 parámetros, aunque el rendimiento conforme al AHA y el mejor compromiso entre dimensionalidad y rendimiento se obtienen con tan sólo 6 parámetros.

El esquema clásico de análisis de ritmo durante RCP (filtro adaptativo y algoritmo de decisión shock/no-shock comercial) consiguió en esta misma base de datos un BAC de 90.0%. El algoritmo de decisión shock/no-shock diseñado a partir de los parámetros extraídos del ECG filtrado ha conseguido incrementar el BAC en 3.5 puntos, debido exclusivamente al incremento de la Sp (7 puntos). Dado que la proporción de ritmos desfibrilables es 6 veces mayor que la de los no-desfibrilables, 3.5 puntos de incremento en el BAC suponen un alto incremento de la precisión total del método (6 puntos).

En conclusión, esta nueva estrategia para diagnosticar el ritmo durante CTs administradas mediante una banda de distribución de carga podría abrir la posibilidad de diagnosticar el ritmo de forma fiable sin tener que interrumpir la terapia RCP. La ausencia de interrupciones hace que el flujo sanguíneo generado por las compresiones torácicas no se vea comprometido incrementando la probabilidad de supervivencia del paciente.

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 GIU 17/031 y del Gobierno Vasco mediante la beca PRE-2017-2-0137.

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] De Gauna S.R et al. Rhythm analysis during cardiopulmonary resuscitation: past, present, and future. *BioMed research international*, vol 2014, 2014.
- [3] Ayala U et al. A reliable method for rhythm analysis during cardiopulmonary resuscitation. *Biomed research international*, vol 2014, 2014.
- [4] Aramendi E et al. Filtering mechanical chest compression artefacts from out-of-hospital cardiac arrest data. *Resuscitation*, vol 98, pp 41-47.
- [5] Isasi I et al. A Multistage Algorithm for ECG Rhythm Analysis during Piston Driven Mechanical Chest Compressions. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 2018.
- [6] Isasi I et al. Removing Piston-driven Mechanical Chest Compression Artefacts from the ECG. *Computing in Cardiology*, 44, 1.
- [7] Isasi I et al. Characterization of the ECG compression artefact caused by the AutoPulse device. *Resuscitation*, 2017, vol 118, pe 38.
- [8] Lerner, E. B et al. Design of the Circulation Improving Resuscitation Care (CIRC) Trial: a new state of the art design for out-of-hospital cardiac arrest research. *Resuscitation*, vol 82, pp 294-299.
- [9] Xiao Y et al. Fast RLS Fourier analyzers capable of accommodating frequency mismatch. *Signal Processing*, vol 87, 2007, pp 2197-2212.
- [10] Figuera C et al. Machine Learning techniques for the detection of shockable rhythms in automated external defibrillators. *PLoS one*, vol 11, pp e0159654.
- [11] Rad AB et al. ECG-based classification of resuscitation cardiac rhythms for retrospective data analysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2017; vol 64, pp 2411–2418.
- [12] Chicote B et al. Application of Entropy-Based Features to Predict Defibrillation Outcome in Cardiac Arrest. *Entropy*, vol 18(9), pp 313.
- [13] 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.
- [14] Ben-Hur A, Weston J. A user's guide to support vector machines. In *Data mining techniques for the life sciences*. Springer, 2010, pp 223–23.

Relación entre la variabilidad del ritmo cardiaco y la fatiga en jugadores de baloncesto profesionales

J. Garrido¹, I. López-Laval², D. Hernando^{1,3}, N. Garatachea^{4,5}, R. Bailón^{1,3}

¹ BSICoS Grupo, I3A, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, España, {jose_garrid@hotmail.com}

² Grupo de Investigación Aplicada. Sport Research-Movimiento Humano. Universidad de Zaragoza, España, {isaac@unizar.es}

³ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBERBBN), España, {dhernand, rbailon@unizar.es}

⁴ GENUD Grupo, IA2, Universidad de Zaragoza, España, {nugarata@unizar.es}

⁵ CIBER de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERON), Universidad de Zaragoza, España

Resumen

El objetivo de este trabajo es estudiar la relación entre la variabilidad del ritmo cardiaco (HRV) y la fatiga en jugadores de baloncesto profesionales. Para ello se analizará una base de datos que contiene el registro RR (Polar Team Pro) de 12 jugadores de baloncesto, pertenecientes a la Asociación de Clubes de Baloncesto (ACB), tomados 15 minutos antes de la sesión de entrenamiento durante 5 semanas de entrenamiento. Como medida de carga de entrenamiento se dispone de los índices de Borg, Foster y dolor. Una limitación de los métodos clásicos de análisis de HRV es que su interpretación no es válida para frecuencias respiratorias muy bajas, lo que además podría ser muy frecuente en deportistas profesionales. Sin embargo, en la mayoría de los casos no se dispone de información respiratoria. Para mejorar el análisis sin contar con la frecuencia respiratoria, proponemos un método de estimación de información respiratoria a partir de parámetros del ritmo cardiaco utilizando una red neuronal estrecha, y después utilizamos esta estimación para obtener nuevos parámetros frecuenciales de HRV. Los nuevos índices propuestos mostraron una relación lineal negativa estadísticamente significativa entre la estimación del balance simpático-vagal y los índices Borg y Foster (p-valor: $2.7e-5$, $\rho = -0.33$). El clásico índice temporal rMSSD también mostró una relación con índices indicadores de dolor (p-valor: 0.01 , $\rho = -0.19$).

1. Introducción

Sería de gran interés ser capaces de caracterizar el estado de deportistas de equipo profesionales para que pudieran adecuar sus entrenamientos, con el fin de evitar el síndrome de sobreentrenamiento y alcanzar su máximo rendimiento deportivo. El sobreentrenamiento es una situación crónica que se debe a la acumulación de cargas altas de trabajo sin la recuperación adecuada, y se puede prevenir, por tanto, adaptando dichas cargas de trabajo.

El análisis HRV permite estimar de manera no invasiva el balance simpático-vagal, que es la relación entre la actividad del sistema simpático y el sistema parasimpático. Numerosos estudios han observado que deportistas que padecen sobreentrenamiento presentan, en reposo, un mayor balance simpático-vagal que los deportistas que no lo padecen [1-3].

Nuestra hipótesis es que la fatiga y dolor durante el entrenamiento, como precursores del sobreentrenamiento, están también relacionados con alteraciones en el balance

simpático-vagal, que se manifiestan en la variabilidad del ritmo cardiaco.

Una limitación de los algoritmos que buscan caracterizar el estado del sistema nervioso autónomo (ANS) utilizando la HRV es que la frecuencia respiratoria, en muchos casos, y especialmente en deportistas profesionales, puede ser baja, solapándose con la componente de baja frecuencia (LF) de la HRV, lo que causa una enorme sobreestimación del balance simpático-vagal [4-6].

Actualmente, muchos de los dispositivos comerciales que se utilizan para hacer análisis HRV (Polar, Garming, Suunto) proporcionan únicamente la serie de intervalos RR, y no información sobre la frecuencia respiratoria, ni el ECG (del cual se puede obtener la señal respiratoria [7]), por lo que la mayor parte de los estudios que realizan análisis de HRV en deportistas no tienen en cuenta las posibles diferentes frecuencias respiratorias.

El objetivo de este trabajo es estudiar la relación ente la variabilidad del ritmo cardiaco, medida justo antes de una sesión de entrenamiento, y las medidas de fatiga y dolor reportadas por jugadores profesionales de baloncesto justo después del entrenamiento. Se utilizarán para ellos los registros RR obtenidos usando un dispositivo comercial Polar. Como no se dispone de información respiratoria, se desarrollará un método que, a partir de las series de RR, estime la probabilidad de que la respiración solape con la banda de LF y, en ese caso, se propondrá una nueva medida de HRV.

2. Bases de datos utilizadas

2.1. Base de datos Tecnyconta

Doce jugadores profesionales de baloncesto, pertenecientes a la Asociación de Clubes de Baloncesto (ACB), han participado en este estudio. Las características de los jugadores se pueden ver en la tabla 2.1.

Edad (años)	Altura (cm)	Masa (kg).	Grasa (%).
28 ± 5	200 ± 7.3	96.7 ± 11.1	9 ± 4

Tabla 1. Características participantes estudio

Todos los jugadores se sometieron a un examen médico en el que se determinó que ninguno de ellos padecía algún

trastorno cardíaco o metabólico que pudiera confundir los resultados del estudio.

Las series de intervalos RR se obtuvieron mediante Polar Team Pro (Polar, Finlandia) con una precisión de 1 ms. Los registros se tomaron durante los 15 minutos previos a la sesión de entrenamiento con los sujetos sentados y en silencio, durante 5 semanas de entrenamiento, contando con 15 registros por jugador.

Se obtienen dos índices indicadores de fatiga: perceptual y fisiológico. Para el índice perceptual (*Borg*), 15 minutos después de cada entrenamiento cada jugador responde a la pregunta “¿Cómo de difícil ha sido el entrenamiento?”. Para el índice fisiológico se utiliza el índice *Foster* [8].

Para obtener los índices de sensación de dolor, los jugadores respondían verbalmente a la pregunta “¿Cuánto dolor sientes?”, habiéndoles explicado que 0 es ningún dolor y 10 es el máximo dolor imaginable. Se obtiene un índice de *predolor* 5 minutos antes del entrenamiento, y un índice de *postdolor* dolor 5 minutos después del entrenamiento. El índice *difdolor* es la diferencia entre ambos.

2.2. Bases de datos respiración

Para diseñar un algoritmo que estime si la frecuencia respiratoria solapa con la banda de LF a partir de la serie RR, se utilizan dos bases de datos, ambas con 23 registros de información simultánea sobre la respiración y la serie RR. Una de ellas, a la que nos referiremos a partir de ahora como base de datos 2) [9], contiene la señal respiratoria y la serie RR. La otra, o base de datos 3) [10], contiene la frecuencia respiratoria y la serie RR.

3. Métodos

3.1. Análisis HRV clásico

Para el análisis de la HRV, se utilizarán dos representaciones de la misma: 1) la serie de intervalos RR normales, resultado de corregir los latidos ectópicos y los errores del pulsómetro utilizando el criterio descrito en [11], que denominamos NN y que se utilizará para obtener los índices temporales de la HRV, y 2) la señal moduladora, $m(t)$, que denominamos señal de HRV, obtenida a partir del modelo IPFM, que se utilizará para obtener los índices frecuenciales de la HRV, que encontramos siguiendo la implementación propuesta en [12], y que también incluye la detección y corrección de latidos ectópicos y de errores del pulsómetro. .

Los parámetros temporales de análisis de HRV se obtienen a partir de la serie NN de intervalos entre latidos normales, y vamos a obtener *SDNN* (desviación estándar de los intervalos NN), y *rMSSD* (valor cuadrático medio de las diferencias sucesivas de intervalos NN adyacentes). El parámetro *rMSSD* representa variaciones de corto plazo en la variabilidad del ritmo cardíaco y se considera relacionado con la actividad del sistema parasimpático [13].

Con respecto al análisis frecuencial, para estimar la densidad espectral de potencia de la señal de HRV, $S_m(F)$, utilizaremos el periodograma de Welch, aplicado a una

señal de 8 minutos de duración y promediando ventanas de 3 minutos y paso entre ellas 45 segundos.

Una vez se ha calculado el espectro de $m(t)$, $S_m(F)$, se obtienen los parámetros frecuenciales potencia de baja frecuencia, entre 0.04 y 0.15 Hz, (*PLF*) y potencia de alta frecuencia, entre 0.15 y 0.4 Hz (*PHF*).

La potencia de HF se asocia a la modulación del sistema parasimpático, siendo esta sincrónica con la respiración. Con respecto a la interpretación del valor de la potencia de la banda de LF *PLF*, refleja tanto actividad simpática como vagal / parasimpática. Por tanto, los parámetros *PLF/PHF* y *PLFn = PLF/(PLF+PHF)* se consideran indicadores del equilibrio entre el sistema simpático y el parasimpático, o balance simpático-vagal.

3.2. Estimación del solape de la frecuencia respiratoria y LF

Una limitación del análisis clásico es que el pico asociado a la actividad parasimpática está centrado en la frecuencia respiratoria, y está puede solapar con la banda de LF. Cuando esto ocurre, la interpretación de los índices no es válida, ya que la componente parasimpática que se espera esté en HF se encuentra en LF.

Puesto que la ausencia de un pico predominante en HF se puede deber tanto a solape entre la respiración y LF (figura 1) como a baja actividad parasimpática (figura 2), no se puede asumir que la ausencia de un pico en HF se debe a solape. Para detectar solape, vamos a proponer un nuevo método, siendo el primer paso definir un índice que cuantifique el solape.

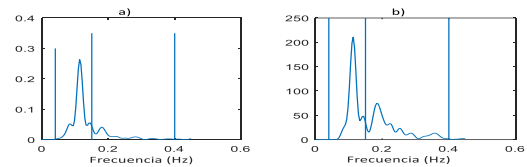


Figura 1. a) espectro HRV y b) espectro de la señal respiratoria para un caso en el que hay solape

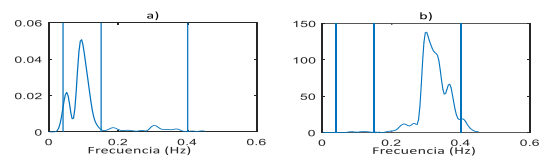


Figura 2. a) espectro HRV y b) espectro de la señal respiratoria para un caso en el que no hay solape pero hay baja actividad parasimpática

Para ello definimos el parámetro R_{HF} , porcentaje de potencia del espectro de la respiración ($S_r(F)$) que está en la banda de HF, para cada una de las ventanas consideradas en el análisis de la señal de HRV. Se calcula R_{HF} como:

$$R_{HF} = \frac{\int_{0.15}^{0.4} S_r(F) dF}{\int_{0.04}^{0.4} S_r(F) dF} \quad (1)$$

Para calcular este índice que nos indica el grado de solapamiento entre la respiración y la componente de LF, necesitamos conocer la señal respiratoria. Sin embargo, en muchos casos, no se dispone de esta información, por lo

que vamos a proponer un método de estimación de este parámetro sin conocer la señal respiratoria, únicamente a partir de la señal de HRV.

Para estimar el parámetro R_{HF} se propone el uso de una red neuronal estrecha (una sola capa de 5 nodos). Como entrada a la red neuronal, se usan parámetros derivados de la señal HRV que muestran relación con el solape. Se han escogido la potencia en la banda LF, PLF , la picudez de la componente espectral dominante en dicha banda [14], Pk_{LF} , y la desviación estandar de la señal moduladora $m(t)$, σ_m . La red se entrena con la base de datos 2). Se cuenta con 829 ventanas de 2 minutos y paso entre ellas 15 segundos. Se establece un umbral $\gamma = 0.5$, cuando \hat{R}_{HF} supere dicho umbral se considera que hay solape.

Una vez que tenemos una estimación del solape, se dividen las ventanas de análisis en las que no hay solape (NS, $\hat{R}_{HF} > \gamma$) y en las que sí se estima solape (S, $\hat{R}_{HF} < \gamma$). Se calculan los vectores de parámetros PLF^{NS} , PHF^{NS} , $PLFn^{NS}$, PLF^S , PHF^S , y PHF^S . Para un primer análisis, se tienen en cuenta solo las zonas de la señal en las que se estima que no hay solape (vectores NS), y obtenemos su mínimo, media, y máximo: $PLFn_{min}^{NS}$, $PLFn_{mean}^{NS}$ y $PLFn_{max}^{NS}$, para el vector $PLFn^{NS}$.

3.3. Nuevo índice de medida de actividad parasimpática

Se propone un nuevo índice, P_{PS} , para medir la actividad parasimpática aun cuando se estima que hay solape. Se parte de la hipótesis de que en los casos en los que la respiración se encuentra consistentemente en zona LF, la actividad parasimpática es predominante y PLF se puede entender como indicador de la modulación parasimpática.

Se obtienen los vectores NS y S de la forma descrita en 3.2. Si se cuenta con tres o más ventanas en las que no hay solape, se utiliza el vector PHF^{NS} como indicador de la actividad parasimpática. Si no se cuenta con al menos 3 ventanas en las que no hay solape, caracterizamos la actividad parasimpática utilizando el vector PLF^S . Se calcula el valor máximo, mínimo, y medio de cada vector. Después proponemos un nuevo índice para caracterizar el sistema parasimpático. También tendremos en este caso una estimación mínima, media y máxima. Siendo N el número de ventanas en las que se ha estimado que no hay solape, el nuevo índice para caracterizar la actividad parasimpática mínima, por ejemplo, se calcula:

$$C = \begin{cases} 1 & \text{si } N \geq 3 \\ 0 & \text{si } N < 3 \end{cases} \quad (2)$$

$$P_{PSmin} = C * PHF_{min}^{NS} + (1 - C) * PLF_{min}^S \quad (3)$$

4. Resultados y discusión

Para evaluar la capacidad de la red neuronal de diferenciar casos de solape de casos de no solape, se utiliza una base de datos diferente a la que hemos utilizado para entrenarla, la base de datos 3). El porcentaje de error, definido como el porcentaje de ventanas en las que se estima que no hay solape, pero sí que lo hay, es del 12.8%, frente al 26.5%

que sería si se tuvieran en cuenta todas las ventanas para el análisis (asumiendo que no hay solape).

Con respecto a la relación estadística entre los parámetros de HRV y los índices de fatiga y dolor, se utiliza una correlación lineal (Pearson). En la Tabla 2 se muestran las relaciones estadísticas que vamos a destacar.

Correlación	$PLFn$	rMSSD	PHF	$PLFn_{max}^{NS}$	P_{PSmin}
<i>Borg</i>	-0.21*	--	--	-0.28**	0.25*
<i>Foster</i>	-0.25*	--	--	-0.33**	0.30**
<i>Predolor</i>	--	0.16*	--	--	--
<i>Difdolor</i>	--	0.19*	--	--	--

Tabla 2. Índices de correlación entre medidas HRV e indicadores de dolor / fatiga.

* P -valor < 0.05 ** P -valor < 0.001

En cuanto a los parámetros temporales, se encuentra una relación positiva entre rMSSD y los índices de dolor *predolor* y *difdolor*.

Utilizando el método de análisis frecuencial clásico se obtiene una correlación lineal de Pearson negativa (índice de correlación ρ : -0.25), y estadísticamente significativa (p -valor: 0.0018) entre parámetros indicadores de la fatiga (se destaca el índice *Foster*), y $PLFn$, indicador de balance simpático-vagal.

Descartando las zonas en las que se estima que hay solape, se obtiene también una correlación lineal negativa entre los parámetros indicadores del balance simpático-vagal y los índices de la fatiga *Borg* y *Foster* (ρ : -0.33), con un p -valor que indica una mayor significación estadística (p -valor: 2.7 e-5).

El índice P_{PSmin} , indicador de actividad parasimpática, tiene una relación positiva (ρ : 0.3, p -valor: 0.0001) con el índice *Borg*, mientras que el índice tradicional *PHF*, que indica actividad parasimpática cuando la frecuencia respiratoria está en HF, no presenta ninguna correlación significativa con índices de fatiga o de dolor.

Por tanto, en los deportistas profesionales de la base de datos de jugadores profesionales de baloncesto analizada, existe una relación negativa entre una mayor preparación para el entrenamiento (menores índices de fatiga o de dolor) y la actividad parasimpática. Observamos esta relación en las correlaciones positivas entre el índice frecuencial de actividad parasimpática (P_{PSmin}) y los índices de fatiga *Borg* y *Foster*, en la correlación positiva entre el índice temporal de actividad parasimpática rMSSD y el índice *predolor*, y en las correlaciones negativas entre los indicadores de equilibrio simpático-vagal ($PLFn$, $PLFn_{max}^{NS}$) y los índices de fatiga.

Con respecto a la capacidad de HRV de estimar el estado del ANS, el hecho de que la relación entre la fatiga y las medidas HRV sea mucho más significativa (p -valor 1.8e-3 frente a p -valor 2.7e-5), si se tiene en cuenta el posible solape con la respiración, nos hace concluir que es

importante tener en cuenta esta a la hora de analizar HRV en deportistas de elite.

Si bien hay numerosos estudios que demuestran la importancia de tener en cuenta la respiración para hacer un buen análisis de HRV [4-6], y numerosos estudios que hacen análisis HRV de deportistas [1-3], faltan estudios sobre la variabilidad del ritmo cardiaco de deportistas que tengan en cuenta que la frecuencia respiratoria puede estar por debajo de 0.2 Hz.

La limitación principal de este trabajo es que, al igual que los demás trabajos que observan HRV en deportistas, no contamos con la señal respiratoria. Hemos reducido el nivel de incertidumbre causado por esta ausencia de información sobre la señal respiratoria prediciendo la cantidad de solape a través de RR. Sin embargo, lo óptimo sería conseguir hacer desaparecer esta incertidumbre, contando con la señal respiratoria. Para ello, una opción es que los pulsómetros comerciales, que utilizan la señal ECG para detectar latidos, estimarán, también a partir de la señal ECG, la frecuencia respiratoria [7]. De conseguirse pulsómetros comerciales que proporcionaran información sobre la respiración, se podrían llevar a cabo estudios muy ambiciosos de análisis de HRV que podrían clarificar su relación con la fatiga.

5. Conclusión

En este trabajo se ha presentado un método de análisis de HRV que, a partir únicamente de la serie de intervalos RR y utilizando una red neuronal, tiene en cuenta el posible solape de la respiración con la banda de LF de la HRV. El nuevo índice propuesto para estimar la actividad del sistema parasimpático mostró una relación positiva con los índices *Borg* y *Foster*. También se observó una relación negativa entre la estimación del balance simpático-vagal y dichos índices. El clásico índice temporal rMSSD mostró una relación negativa con los índices de dolor.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBERBBN y CIBERON), a través del Instituto de Salud Carlos III, y por la Diputación General de Aragón a través de los Grupos de Referencia BSICoS (T39_17R) y el GENUD Research Group.

Referencias

[1] Dong JG. The role of heart rate variability in sports physiology. *Experimental and Therapeutic Medicine. Exp Ther Med.* 2016 May; 11(5): 1531–1536.

[2] Uusitalo AL, Uusitalo AJ, Rusko HK. Heart rate and blood pressure variability during heavy training and overtraining in the female athlete. *Int J Sports Med.* 2000 Jan; 21(1):45-53

[3] Kajaia T, Maskhulia L, Chelidze K, Akhalkatsi V, Kakhabrishvili Z. The effects of non-functional overreaching and overtraining on autonomic nervous system function in highly trained athletes. *Georgian Med News.* 2017 Mar; (264):97-103

[4] Aysin B, Aysin E. Effect of respiration in heart rate variability (HRV) analysis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2006; 1:1776-9.

[5] Lt Col KK Tripathi. Respiration and heart rate variability: A review with special reference to its application in aerospace medicine. *Indian Journal of Aerospace Medicine* 2004; Vol. 48, No. 1. pp. 64-75

[6] Hernando A, Lazaro J, Gil E, Arza A, Garzon JM, Lopez-Anton R, de la Camara C, Laguna P, Aguilo J, Bailon R. Inclusion of Respiratory Frequency Information in Heart Rate Variability Analysis for Stress Assessment. *IEEE J Biomed Health Inform.* 2016 Jul; 20(4):1016-25. doi: 10.1109/JBHI.2016.2553578. Epub 2016 Apr 13

[7] Bailón R, Sörnmo L, Laguna P. A robust method for ECG-based estimation of the respiratory frequency during stress testing. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2006 Jul;53(7):1273-85

[8] Foster C, Florhaug JA, Franklin J, Gottschall L, Hrovatin LA, Parker S, Doleshal P, Dodge C. A new approach to monitoring exercise training. *J Strength Cond Res.* 2001 Feb;15(1):109-15

[9] Hellhammer J, Schubert M. The physiological response to Trier Social Stress Test relates to subjective measures of stress during but not before or after the test. *Psychoneuroendocrinology.* 2012 Jan;37(1):119-24.

[10] Hernando D, Hernando A, Casajús J, Laguna P, Garatachea N, Bailón R. Methodological framework for heart rate variability analysis during exercise: application to running and cycling stress testing. *Med Biol Eng Comput.* 2018 May;56(5):781-794.

[11] Mateo J. Laguna P. "Analysis of Heart Rate Variability in the Presence of Ectopic Beats Using the Heart Timing Signal," *IEEE Trans. on Biomedical Engineering*, 2003; vol. 50, n. 3, pp. 334-343

[12] Bailón R, Laouini G, Grao C, Orini M, Laguna P, Meste O. The integral pulse frequency modulation model with time-varying threshold: application to heart rate variability analysis during exercise stress testing. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2011 Mar;58(3):642-52. doi: 10.1109/TBME.2010.2095011. Epub 2010 Dec 6.

[13] 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 Mar 1;93(5):1043-65

[14] Hernando A, Lazaro J, Gil E, Arza A, Garzon JM, Lopez-Anton R, de la Camara C, Laguna P, Aguilo J, Bailon R. Inclusion of Respiratory Frequency Information in Heart Rate Variability Analysis for Stress Assessment. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics.* 2016; 20:1016-1025. 10.1109/JBHI.2016.2553578.

Procesado de Señal II

Miércoles, 21 de noviembre

Método sencillo y eficiente para la eliminación de la interferencia de red en el ECG usando la transformada Wavelet

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

¹ Grupo de Investigación en Electrónica, Telecomunicación y Bioingeniería, DIEEAC, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España, {Manuel.García, Juan.Rodenas, Raul.Alcaraz}@uclm.es

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

Resumen

El electrocardiograma (ECG) es todavía hoy la señal más utilizada en la evaluación de patologías cardiacas. Sin embargo, su registro suele verse alterado por la presencia de perturbaciones ruidosas de origen diverso, destacando la interferencia de la red eléctrica (IR). La eliminación de este ruido es fundamental para evitar que pueda modificar la forma de onda original del ECG y, en consecuencia, afectar al correcto diagnóstico o tratamiento de algunas patologías. Con tal propósito, este trabajo presenta un algoritmo sencillo y eficaz para suprimir la IR del ECG. Brevemente, la señal de entrada es descompuesta en 4 niveles mediante la transformada Wavelet estacionaria (TWE) y los coeficientes resultantes se umbralizan para eliminar el nivel de ruido equivalente presentado por los intervalos TQ. Como último paso, la señal filtrada es reconstruida a través de la TWE inversa. Para la validación del método se ha hecho uso de la base de datos de Ritmo Sinusal Normal del MIT-BIH, previa contaminación con una señal sinusoidal de 50 Hz y un contenido armónico variable para obtener relaciones señal/interferencia de 15, 5 y -5 dB. Con un propósito comparativo, también se ha implementado un filtro notch adaptativo, de forma que para ambos métodos se han estimado las diferencias entre las señales resultantes y la original a través de un índice de correlación en el tiempo. El método propuesto ha mostrado mejoras entre el 10 y el 57% respecto del filtrado adaptativo, presentando un mejor compromiso entre la eliminación de ruido y la conservación de la morfología de la señal de ECG original.

1. Introducción

El electrocardiograma de superficie (ECG) todavía se emplea hoy en día en la detección precoz y el tratamiento de una amplia variedad de trastornos cardiacos, siendo por tanto una herramienta no invasiva fundamental en la práctica clínica diaria [1, 2].

Esta señal registra la actividad eléctrica del corazón a través de diferencias de potencial obtenidas entre electrodos colocados en ubicaciones preestablecidas del cuerpo del paciente. Dado que las diferencias de potencial registradas de esta manera son extremadamente débiles, usualmente comprendidas en el rango de microvoltios a unos pocos milivoltios, diferentes tipos de perturbaciones eléctricas pueden llegar a enmascarar parcial o totalmente las características morfológicas de las formas de onda obtenidas. Así pues, el diagnóstico de patologías cardiacas a través de esta señal puede llegar a complicarse, dificultando la labor del cardiólogo o, si fuese el caso, el correcto funcionamiento de sistemas automáticos de detección de determinados trastornos cardiacos [3]. Dichas

perturbaciones proceden de fuentes de distinto origen [4], tanto biológicas, entre las que podría incluirse las debidas a movimientos musculares o a la respiración del paciente, como medioambientales, tales como las ocasionadas por interferencias de radiofrecuencia. Respecto a estas últimas, la interferencia debida a la red eléctrica (IR) adquiere especial relevancia pues, en mayor o menor medida, siempre estará presente durante el registro de un ECG y, por tanto, puede considerarse la perturbación más común en este tipo de señales [5]. La eliminación de esta interferencia eléctrica, causada por el acoplamiento capacitivo entre el paciente y el cableado de la línea de distribución eléctrica o de dispositivos eléctricos cercanos, presenta una doble problemática. Por una parte, se trata de una señal no estacionaria, pues puede fluctuar tanto en frecuencia como en amplitud y, por otra, su frecuencia fundamental, determinada por la frecuencia nominal de la línea de distribución (50 Hz en España), queda incluida dentro del ancho de banda del ECG, comprendido en el rango de 0,05 a 150 Hz [6].

Tratando de salvar estos inconvenientes, en los últimos años se han propuesto varias metodologías para eliminar esta perturbación. De hecho, se pueden encontrar desde métodos basados en filtros notch convencionales [4, 7] o adaptativos [8, 9], hasta otras estrategias más complejas basadas en redes neuronales, descomposición de modo empírico u otras metodologías de naturaleza similar [10-12]. Estos algoritmos actúan separando y eliminando la frecuencia de la señal interferente, modificando así notablemente la morfología de la señal original de ECG [13, 14]. Este comportamiento no es deseable desde un punto de vista clínico, ya que podría derivar en un diagnóstico o tratamiento inapropiado de los pacientes.

En algunos trabajos recientes la transformada Wavelet (TW) también se ha empleado para eliminar la IR en el ECG [13, 14], aplicando para ello diferentes métodos de umbralización de los coeficientes wavelet [5]. Esta herramienta ha mostrado mejores resultados que otros algoritmos previos debido a su capacidad para tratar con señales no estacionarias. No obstante, al mejor de nuestro conocimiento, solo se ha empleado hasta el momento la TW discreta, la cual es muy fácil de implementar a través de un banco de filtros, pero presenta el problema de reducir el tamaño de los vectores de coeficientes wavelet para escalas sucesivas. En el contexto descrito, este modo de operación implica una disminución de la resolución temporal de la señal, dificultando por tanto la conservación

de la morfología original del ECG, y especialmente la de los complejos QRS. Para superar este problema, la TW estacionaria (TWE) es una alternativa muy interesante, al no aplicar diezmado.

Así pues, en este trabajo se presenta una metodología sencilla de filtrado de la IR en el ECG basada en la TWE que, haciendo uso de un nuevo algoritmo de umbralización de los coeficientes wavelet, es capaz de lograr un buen compromiso entre reducción de la señal interferente y la conservación de la señal original. Además, para recrear un contexto más realista que el presentado en otros estudios previos, donde mayoritariamente se han considerado pequeños tramos de ECG o de señales sintéticas, la validación del método propuesto se ha realizado con registros Holter de larga duración.

2. Materiales

Precisamente, en este trabajo se han considerado todos los registros de la base de datos “MIT-BIH Normal Sinus Rhythm Database (NSRDB)”, disponible libremente en PhysioNet [15]. Brevemente, la base de datos contiene 18 registros de ECG de larga duración, que se adquirieron con una frecuencia de muestreo de 128 Hz. Aunque cada registro incluye dos derivaciones, y dado que la presencia de ruido de distinto origen es muy común en este tipo de registros, sólo se seleccionó aquella derivación en la que los patrones morfológicos de las diferentes ondas se mostraban con mayor claridad. Finalmente, hay que indicar que las señales se remuestrearon a 1000 Hz.

3. Método

3.1. Reducción de la IR basada en TWE

La Figura 1 muestra el diagrama de bloques que resume la metodología propuesta.

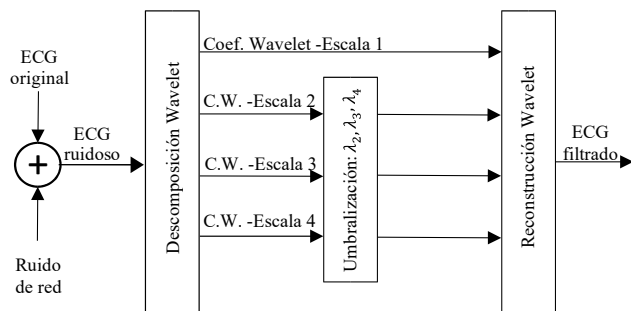


Figura 1. Diagrama de bloques del algoritmo propuesto

En primer lugar, los registros de ECG originales fueron alterados por una IR generada sintéticamente, para obtener así las señales ruidosas que se proporcionaron al método. En Europa, la norma EN50160 define las principales características de la tensión en las redes de distribución de energía eléctrica [16]. De hecho, esta normativa establece que las variaciones máximas entorno a la frecuencia principal de 50 Hz deben ser inferiores a $\pm 1\%$, pudiendo además la señal de red presentar componentes armónicas con una potencia limitada a 2 y 5% para los primeros dos múltiplos enteros de 50 Hz, respectivamente. Para reproducir esta interferencia de red de la forma más realista posible, se consideraron todos estos aspectos, incluyendo las variaciones aleatorias de amplitud y frecuencia dentro

de los límites descritos, tanto para la componente fundamental de 50 Hz como para sus dos primeros armónicos [17]. De esta manera, la señal resultante se utilizó para obtener versiones ruidosas de cada uno de los ECG originales, con relaciones señal/interferencia (SIR) de 15, 5 y -5 dB.

A continuación, cada una de estas señales con ruido se descompuso, en primer lugar, en cuatro niveles wavelet a través de una función Daubechies de sexto orden como wavelet madre. Los coeficientes wavelet para las escalas 2, 3 y 4 se umbralizaron para eliminar la IR y, finalmente, la señal de ECG filtrada se obtuvo mediante la TWE inversa.

En el proceso descrito se empleó una función de umbralización de los coeficientes wavelet totalmente adaptada para optimizar la eliminación de la IR, así como para preservar al máximo la morfología del ECG original. De hecho, para cada escala wavelet se calculó un umbral adaptativo en el tiempo, descartando la información de mayor amplitud asociada a los complejos QRST. Más precisamente, para cada escala se obtuvo el umbral λ_j como resultado de aplicar un filtro de mediana móvil para una ventana de 200 ms al valor absoluto de los coeficientes wavelet.

Por otro lado, dado que la forma de umbralizar los coeficientes tiene un impacto significativo en la eliminación del ruido y en la morfología de la señal resultante, se empleó una combinación de las dos estrategias más conocidas en el ámbito de la reducción de ruido con TW, es decir, de la umbralización dura y suave [5, 18]. Así pues, mientras que en las regiones asociadas a los complejos QRS se aplicó una umbralización dura para no alterar su morfología, en el resto de las regiones se utilizó una suave para reducir al máximo el ruido de red.

3.2. Evaluación de la reducción de ruido en el ECG

Para valorar tanto la reducción de ruido como la conservación de la morfología del ECG conseguidas por el método propuesto, la señal resultante se comparó en términos de correlación con la señal original. Debido a que el índice de correlación clásico de Pearson no tiene en cuenta las diferencias de amplitud entre las señales, se utilizó el índice de correlación de signo adaptativo (ICSA) para una comparación morfológica más precisa. Desde un punto de vista matemático, denominando $x(n)$ al ECG original libre de ruido y $\hat{x}(n)$ al ECG filtrado, el ICSA se definió como:

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

donde N es el número de muestras de ambas señales y el operador \otimes se define como:

$$x(k) \otimes \hat{x}(k) = \begin{cases} 1 & \text{if } |x(n) - \hat{x}(n)| \leq \beta, \\ -1 & \text{if } |x(n) - \hat{x}(n)| > \beta; \end{cases} \quad (2)$$

siendo β un umbral establecido experimentalmente como el 5% de la desviación estándar de $x(n)$.

Finalmente, para poder valorar el comportamiento del método propuesto, también se ha implementado un filtro

notch adaptativo (FNA) de acuerdo con las especificaciones indicadas en el trabajo [19].

4. Resultados

La Tabla 1 muestra los resultados globales obtenidos en todos y cada uno de los registros analizados para los valores específicos de SIR de 15, 5 y -5 dB.

Registro	SIR 15 dB		SIR 5 dB		SIR -5 dB	
	TWE	FNA	TWE	FNA	TWE	FNA
16265	94,03	89,60	92,76	79,86	92,49	35,33
16272	93,23	86,23	92,32	77,61	92,17	36,21
16273	95,71	90,41	94,69	79,71	94,33	35,86
16420	92,69	89,48	90,81	79,36	90,25	35,41
16483	93,57	80,65	92,34	69,45	91,92	34,28
16539	93,05	81,35	91,11	71,90	90,59	34,71
16773	96,08	85,35	95,22	75,16	94,97	35,05
16786	94,21	87,05	93,25	75,91	92,93	35,30
16795	95,13	79,53	94,02	70,30	93,61	34,66
17052	93,08	90,63	91,68	81,21	91,38	35,68
17453	93,68	81,45	92,60	73,67	92,22	35,03
18177	93,02	79,66	91,37	71,15	90,89	34,72
18184	93,30	87,08	91,63	76,50	91,13	35,13
19088	94,13	76,76	92,53	66,46	92,01	34,30
19090	95,12	84,64	93,80	74,21	93,49	35,32
19093	94,41	83,39	93,15	72,03	92,77	35,02
19140	94,66	81,02	93,28	69,03	92,88	34,72
19830	92,38	81,78	90,21	73,24	89,69	34,98

Tabla 1. Valores del ICSA (%) obtenidos con tres diferentes niveles de SIR, para cada uno de los registros completos de la MIT-BIH NSRDB, proporcionados por un filtrado adaptativo y por el algoritmo basado en TWE propuesto en este trabajo.

Para ilustrar gráficamente el comportamiento comparativo de la metodología desarrollada en este trabajo respecto de la obtenida con el filtrado adaptativo, en la Figura 2 se muestra, a partir de un tramo de ECG de 10 segundos obtenido a partir del registro 16483, la distribución espectral correspondiente para el tramo de la señal original, de la señal ruidosa y de las señales resultantes tras aplicar ambos procedimientos de filtrado de la IR para un valor de SIR de -5 dB.

5. Discusión

El FNA mostró su mejor comportamiento para el nivel más alto de la SIR, para el que el valor del ICSA alcanzado se mantuvo entre 76% y 90%. No obstante, rápidamente empeoró en todos los registros para valores de SIR más pequeños, reduciéndose en promedio un valor cercano al 10% y 50% para niveles de la SIR de 5 dB y -5 dB, respectivamente. Este comportamiento sugiere que la adaptabilidad de este tipo de filtrado, ampliamente utilizado como alternativa a otros filtros notch clásicos por su capacidad de realizar un seguimiento de las variaciones de la señal, es muy dependiente del nivel de ruido presente en la señal ECG. Esta dependencia se puede observar en la Figura 2, donde se aprecia claramente el elevado valor residual tanto de la componente de 50 Hz como de sus armónicos, tras aplicar este tipo de filtrado a una señal contaminada con una SIR de -5 dB. Por otra parte, los pobres valores del ICSA obtenidos para altos niveles de

ruido también sugieren que en la señal resultante se ha producido una pérdida significativa de la morfología original, lo que sin duda supone una limitación significativa añadida para esta metodología de filtrado.

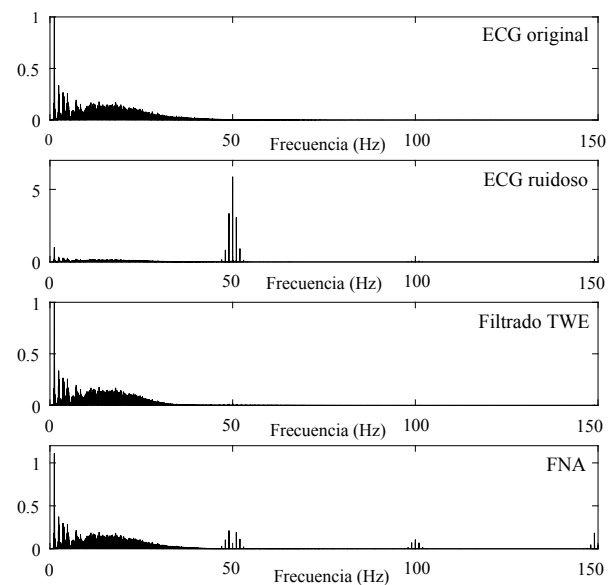


Figura 2. Distribución espectral resultante tras aplicar tanto el filtrado adaptativo como el algoritmo basado en TWE a una señal original de 10 segundos de duración con una SIR de -5 dB

Ambos inconvenientes mostrados por el FNA son superados por el algoritmo basado en TWE presentado en este trabajo. Tal y como se puede ver en los resultados recogidos en la Tabla 1, para este procedimiento de filtrado los valores de correlación fueron siempre, para todos los registros, superiores al 92%, muy por encima de los obtenidos para el FNA, para el mayor nivel de la SIR (15dB). Además, los valores de correlación obtenidos cuando el nivel de ruido aumentó apenas se alteraron, demostrando una total independencia en el comportamiento de esta metodología en relación con el nivel de ruido presente en la señal de ECG original. De hecho, estos valores únicamente se redujeron en promedio 1.40 y 1.80 puntos porcentuales para los niveles de SIR de 5 y -5 dB, respectivamente. Así pues, se puede concluir que las variaciones morfológicas introducidas en el ECG por este algoritmo resultaron insignificantes para cualquiera de los niveles de ruido estudiados. Por otra parte, tal y como se puede observar en la distribución espectral de la Figura 2 respecto de la señal filtrada mediante este procedimiento, tanto la componente fundamental de 50 Hz como sus armónicos resultaron imperceptibles.

En términos relativos, los resultados de correlación obtenidos con el filtrado basado en TWE mejoraron en un 10%, 16% y 57% los alcanzados por el FNA para valores de SIR de 15 dB, 5 dB y -5 dB, respectivamente. Por otra parte, en términos absolutos, el algoritmo de filtrado basado en TWE presentó un magnífico comportamiento en presencia de niveles de ruido tanto altos como bajos, alcanzando valores de correlación cercanos o superiores al 90%, lo que posibilita su utilización como etapa de filtrado para la eliminación de la IR en ECG bajo cualquier nivel de ruido.

Finalmente, es preciso resaltar que, en relación a otros trabajos previos que, haciendo uso de diferentes algoritmos basados en la TW, han reportado aceptables resultados como etapas de filtrado de la IR, estos logros fueron obtenidos en ocasiones tras aplicar el algoritmo correspondiente a señales sintéticas o a segmentos reales de corta duración [20], o bien aplicando niveles de ruido relativamente bajos a las señales originales [13], lo que no siempre obedece a situaciones reales. Contrariamente, en el estudio llevado a cabo en este trabajo se han analizado señales de ECG de larga duración y con un amplio espectro de niveles de ruido, trabajando así con condiciones lo más cercanas posibles a escenarios reales.

6. Conclusiones

En el presente trabajo se ha introducido un algoritmo de filtrado sencillo y eficaz, basado en TWE, capaz de eliminar la interferencia de red del ECG y, simultáneamente, preservar la integridad de la señal original. El algoritmo ha demostrado un excelente comportamiento, que se mantiene sin apenas alteración para todos los niveles de SIR considerados en el estudio. Ello permite concluir que se podría utilizar en distintos escenarios de contaminación ruidosa, tanto con registros de ECG en los que el nivel de la interferencia sea relativamente bajo como con aquellos en los que el nivel de perturbación presente sea bastante más elevado.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE y SBPLY/17/180501/000411 de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] Lyon A, Mincholé A, Martínez JP, Laguna P, Rodríguez B. Computational techniques for ECG analysis and interpretation in light of their contribution to medical advances. *Journal of the Royal Society Interface*, vol. 15, no. 138, pp. 2017.0821, 2018.
- [2] Lanza GA, The Electrocardiogram as a Prognostic Tool for Predicting Major Cardiac Events. *Progress in Cardiovascular Diseases*, vol. 50, no. 2, pp. 87-111, 2007.
- [3] Biswas U, Maniruzzaman M, Removing Power Line Interference from ECG Signal Using Adaptive Filter and Notch Filter. *International Conference on Electrical Engineering and Information & Communication Technology (ICEEIT)*, Bangladesh, 2014, pp. 1-4.
- [4] Asgari S, Mehrnia A. A novel low-complexity digital filter design for wearable ECG devices. *PLoS One*, vol. 12, no. 4: e0175139, 2017.
- [5] Thalkar S, Upasani D. Various Techniques for Removal of Power Line Interference From ECG Signal. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, vol. 4, no. 12, pp. 12-23, 2013.
- [6] Kligfield P, Gettes LS, Bailey JJ, Childers R, Deal BJ, Hancock EW, van Herpen G, Kors JA, Macfarlane P, Mirvis DM, Pahlm O, Rautaharju P, Wagner GS. Recommendations for the Standardization and Interpretation of the Electrocardiogram: Part I: The Electrocardiogram and Its Technology A Scientific Statement From the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; the American College of Cardiology Foundation; and the Heart Rhythm Society Endorsed by the International Society for Computerized Electrocardiology. *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 49, no. 10, pp. 1109-1127, 2007.
- [7] Narvaria RP, Verma S, Singhal PK. Removal of Baseline Wander and Power Line Interference from ECG Signal - A Survey Approach. *International Journal of Electronics Engineering*, vol. 3, no. 1, pp. 107-111, 2011.
- [8] Manivel K, Ravindran RS. Noise Removal for Baseline Wander and Power Line in Electrocardiograph Signals. *International Journal of Advanced Research in Electrical, Electronics and Instrumentation Engineering*, vol. 4, no. 2, pp. 1114-1122, 2015.
- [9] Mursi MNA, Nerma MHM. Reduction Of Power Line Humming And High Frequency Noise From Electrocardiogram Signals. *International Journal of Scientific & Technology Research*, vol. 4, no. 6, pp. 201-210, 2015.
- [10] Rakshit M, Das S. An efficient ECG denoising methodology using empirical mode decomposition and adaptive switching mean filter. *Biomedical Signal Processing and Control*, vol. 40, pp. 140-148, 2018.
- [11] Zhu J, Li X. Electrocardiograph signal denoising based on sparse decomposition. *Healthcare Technology Letters*, vol. 4, no. 4, pp. 134-137, 2017.
- [12] Yue Q, Feng X, Haibin S. Elimination of power line interference from ECG signals using recurrent neural networks. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, vol. 2017, pp. 2296-2299, 2017.
- [13] Han G, Xu Z. Electrocardiogram signal denoising based on a new improved wavelet thresholding. *Rev Sci Instrum*, vol. 87, no. 8, 084303, 2016.
- [14] El B'charri O, Latif R, Elmansouri K, Abenaou A, Jenkal W. ECG signal performance de-noising assessment based on threshold tuning of dual-tree wavelet transform. *BioMedical Engineering OnLine*, vol. 16, pp. 26, 2017.
- [15] Goldberger AL, Amaral LA, Glass L, Hausdorff JM, Ivanov PC, Mark RG, Mietus JE, Moody GB, Peng CK, Stanley HE. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: components of a new research resource for complex physiologic signals. *Circulation*, vol. 101, no. 23, pp. E215-20, 2000.
- [16] European Committee for Electrotechnical Standardization. EN 50160: Voltage characteristics of electricity supplied by public distribution systems: CENELEC, 1999.
- [17] Warmerdam GJJ, Vullings R, Schmitt L, Van Laar JOEH, Bergmans JWM. A Fixed-Lag Kalman Smoother to Filter Power Line Interference in Electrocardiogram Recordings. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 64, no. 8, pp.1852-1861, 2017.
- [18] Donoho DL, Johnstone IM. Adapting to Unknown Smoothness via Wavelet Shrinkage. *Journal of the American Statistical Association*, vol. 90, no. 432, pp. 1200-1224, 1995.
- [19] Costa MH, Tavares MC. Removing harmonic power line interference from biopotential signals in low cost acquisition systems. *Comput Biol Med*, vol. 39, no. 6, pp. 519-526, 2009.
- [20] Singh O, Sunkaria RK. ECG signal denoising via empirical wavelet transform. *Australas Phys Eng Sci Med*, vol. 40, no. 1, pp. 219-229, 2017.

Predicción de Recurrencias Tras Cardioversión Eléctrica de Fibrilación Auricular Persistente Mediante Índices No Lineales Aplicados al Electrocardiograma

M. Esparza Bertolín¹, M. Perea Ribis², E. Plancha Burguera², R. Alcaraz Martínez³, J.J. Rieta Ibáñez¹

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

² FISABIO–Servicio de Medicina Interna, Hospital Francisc de Borja, Gandia, España, {perea_ma, plancha_eva}@gva.es

³ Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

Resumen

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardiaca más diagnosticada en la práctica clínica, siendo la cardioversión eléctrica (CVE) uno de sus principales tratamientos para los pacientes con FA persistente. En este trabajo se han aplicado diferentes métricas de complejidad sobre el ECG de pacientes con FA, considerado como una serie temporal no lineal, con el objetivo de predecir, antes del procedimiento de CVE, las recurrencias de FA en un periodo de un mes. Tras realizar un acondicionamiento previo de la derivación VI del ECG, se obtuvo la onda auricular principal y, sobre ésta, se aplicaron diferentes índices y métricas no lineales. Así, se calculó la frecuencia auricular dominante, la energía de las ondas fibrilatorias, las entropías muestral y fuzzy y los exponentes de Hurst. Los resultados obtenidos se analizaron por separado y, también, de forma conjunta mediante el clasificador de k-vecinos más próximos, empleándose un método de validación cruzada. Se obtuvieron las curvas ROC y la precisión para todas las combinaciones de parámetros. Mediante la combinación de las entropías muestral y fuzzy, junto con la energía de las ondas fibrilatorias se obtuvieron resultados de predicción de recurrencias del 77,1 % de precisión. Al añadir los exponentes de Hurst al modelo, esta precisión alcanzó el 80 %. Como conclusión cabe decir que la aplicación de métricas no lineales sobre el ECG permite predecir las recurrencias de FA tras CVE. Además, la inclusión de los exponentes de Hurst y la entropía fuzzy en el modelo predictivo ha logrado mejorar la precisión de forma considerable, en comparación con otras métricas previamente utilizadas.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia supraventricular más diagnosticada en la práctica clínica, siendo ésta la causa de más de un tercio de las hospitalizaciones debidas a desórdenes cardíacos [1]. Su prevalencia aumenta considerablemente con la edad. Se calcula que esta arritmia está presente en el 0,12 – 0,16 % de los menores de 49 años, en el 3,7 – 4,2 % de los que tienen entre 60 – 70 años y en el 10 – 17 % de los que tienen 80 años o más [2]. Además, el 50 % de pacientes con FA son mayores de 75 años y,

debido al envejecimiento de la población, se cree que en 50 años la prevalencia de la FA se duplicará [3]. A pesar de que la FA no es una enfermedad terminal, está asociada con la formación de trombos auriculares y la embolización periférica, que pueden conducir a la aparición de accidentes cerebrovasculares [4]. Esto último representa un gran problema ya que, en promedio, el riesgo de accidente cerebrovascular relacionado con tromboembolismo es más del 2 % por año en pacientes con FA [5].

Durante la FA, se produce un remodelado en las aurículas tanto estructural como electrofisiológico [6]. Este concepto es de vital importancia ya que indica cómo de establecida está la arritmia y, por tanto, su posible perpetuación en el tiempo [7]. Según sus posibilidades de terminación la FA puede clasificarse en tres tipos [8]. Una FA paroxística es aquella que termina espontáneamente en un periodo inferior a 7 días. Por otro lado, una FA persistente es aquella que requiere intervención médica para su finalización. Por último, la FA es considerada permanente cuando su terminación es imposible o no está recomendada [8].

A los pacientes con FA persistente se les aplican tres tratamientos principales, que son los siguientes (según orden de actuación): cardioversión farmacológica (CVF), cardioversión eléctrica (CVE) y ablación por radiofrecuencia [8]. La CVF consiste en la administración de fármacos anticoagulantes y antiarrítmicos para intentar revertir a arritmia a ritmo sinusal (RS) [9]. Seguidamente, la CVE puede ser aplicada cuando, a pesar de haber tratado al paciente mediante CVF, la FA continúa siendo persistente [9]. La CVE consiste en la aplicación de un choque eléctrico sincronizado en el pecho del paciente con el objetivo de revertir la arritmia. Como se ha dicho, la FA predispone a la formación de coágulos sanguíneos o trombos auriculares [5]. En hasta el 90 % de los casos, estos trombos están ubicados en la aurícula izquierda [10]. El principal peligro es que, tras la aplicación de un choque de cardioversión eléctrica, estos trombos puedan desprenderse, moverse y viajar por el torrente sanguíneo, causando un tromboembolismo. Si el trombo viaja por el cuello puede llegar hasta el cerebro y provocar un accidente cerebrovascular [4].

La idea fundamental de este trabajo es hacer uso de métricas no lineales de medida de regularidad y complejidad de series temporales para aplicarlas al electrocardiograma (ECG) de superficie e intentar estimar el estado de remodelado auricular de cada paciente con FA persistente previamente a una CVE. Conocer la futura eficacia del proceso implicaría evitar exponer a los pacientes cuya CVE no vaya a ser efectiva a los riesgos que supone el tratamiento [11].

En diversos estudios se ha hecho uso de la una métrica no lineal denominada entropía muestral (SampEn) para estimar recurrencias de FA tras CVE [12, 13]. No obstante, existen otras métricas, como los exponentes de Hurst (HE), que todavía no han sido aplicadas en este contexto y que, no obstante, han mostrado ser eficaces en la evaluación del remodelado auricular dentro del contexto de terminación espontánea de FA paroxística [14]. Además, se ha demostrado la eficacia de la entropía fuzzy o FuzzyEn para clasificar pacientes con FA paroxística según su terminación espontánea rápida o tardía [15]. Por ello, se ha considerado pertinente aplicar también esta entropía en el estudio de recurrencias en FA tras CVE.

El objetivo principal es conseguir un buen poder predictivo mediante la inclusión de nuevas métricas nunca usadas hasta el momento con este fin, bien en solitario o bien junto con otros parámetros de referencia como la SampEn o la frecuencia auricular dominante (FAD). Concretamente, se pretende estudiar la mejoría que pueden aportar índices no lineales como HE y FuzzyEn para predecir las recurrencias en FA tras un mes de la aplicación de CVE en pacientes con FA persistente.

2. Materiales

El estudio consideró los registros de ECG de 35 pacientes con FA persistente con una duración de, al menos, 30 días. Todos ellos fueron previamente tratados con *Acenocumarol* como anticoagulante y sometidos a una cardioversión farmacológica con *Amiodarona* (200mg/día) que no consiguió revertir la arritmia. Por ello, se planificó su CVE unos días después. Antes del procedimiento se registró un ECG de 12 derivaciones de cada paciente durante varios minutos. A todos ellos se les aplicó un solo choque bifásico con energía de 200J tras el cual se consiguió restaurar el ritmo sinusal. No obstante, 21 de ellos recidivaron en FA antes de un mes. A estos registros se les etiquetó como RE, de Recidiva. Los 14 pacientes restantes continuaron en ritmo sinusal al menos durante un mes tras el procedimiento. Estos pacientes se etiquetaron como NR, de No Recidiva.

En cuanto a la derivación del ECG escogida para el estudio, en el caso de querer detectar la actividad de las aurículas, una buena derivación es la V1 ya que refleja de forma muy precisa la actividad de la aurícula derecha y en un menor nivel, la de la aurícula izquierda [16]. Por ello, esta fue la derivación escogida de entre las 12 disponibles. Además, se ha demostrado que es la que muestra mayor amplitud de la actividad auricular (AA) en comparación con la actividad ventricular [16]. Los registros obtenidos fueron digitalizados con una frecuencia de muestreo de 1024 Hz y con una resolución de 16 bits.

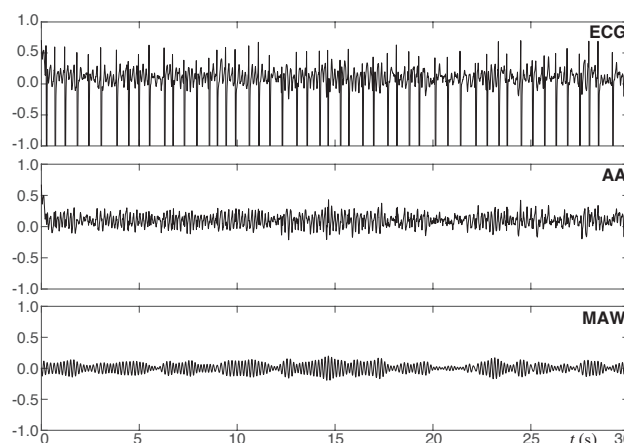


Figura 1. De arriba a abajo: ejemplo de una derivación VI del ECG, actividad auricular (AA) y onda auricular principal (MAW) de un paciente de la clase NR.

3. Métodos

3.1. Acondicionamiento de los registros

Antes de aplicar cualquier tipo de procesado de señal al ECG para realizar algún tipo de análisis no lineal es necesario preprocesar la señal previamente para eliminar sus partes no deseadas, ruidos y artefactos, y conseguir así un análisis adecuado. Primero, la fluctuación de la línea base fue eliminada mediante un filtrado bidireccional haciendo uso de un filtro paso alto a una frecuencia de corte de 0.5 Hz. La fluctuación de la línea base es un ruido debido al movimiento de los electrodos sobre la piel o a otros cambios, como por ejemplo los debidos a la respiración [13].

A continuación, se empleó un filtrado bidireccional mediante un filtro paso bajo IIR Chebyshev de octavo orden con una frecuencia de corte de 70 Hz para descartar el ruido de altas frecuencias, que en este estudio no es información relevante [13]. Por último, la interferencia de la red eléctrica fue eliminada mediante un filtrado adaptativo Notch que mantuvo la información espectral del ECG pero redujo el ruido no deseado y mejoró por tanto el ratio señal-ruido [13].

3.2. Procesado de la señal y obtención de parámetros

En el presente trabajo se ha analizado la actividad auricular (AA) presente en los registros de FA. Por ello, fue necesario realizar una cancelación del complejo QRST detectando todos los picos R. Tras ello, se obtuvo una plantilla ventricular para su sustracción como la primera componente principal de todos los complejos identificados [17]. El residuo de señal obtenido tras cancelar el complejo QRST se corresponde con la AA (ver Figura 1).

Seguidamente se obtuvo la onda auricular principal (MAW) de un segmento de 10 segundos de la AA previo a la CVE. Para cada uno de estos segmentos se obtuvo la densidad espectral de potencia (DEP) mediante el periodograma de Welch, utilizando una ventana Hamming de 4.096 puntos, un solapamiento del 50 % entre ventanas consecutivas y una transformada de Fourier de 10.240 puntos [12]. De la DEP se obtuvo la frecuencia con ma-

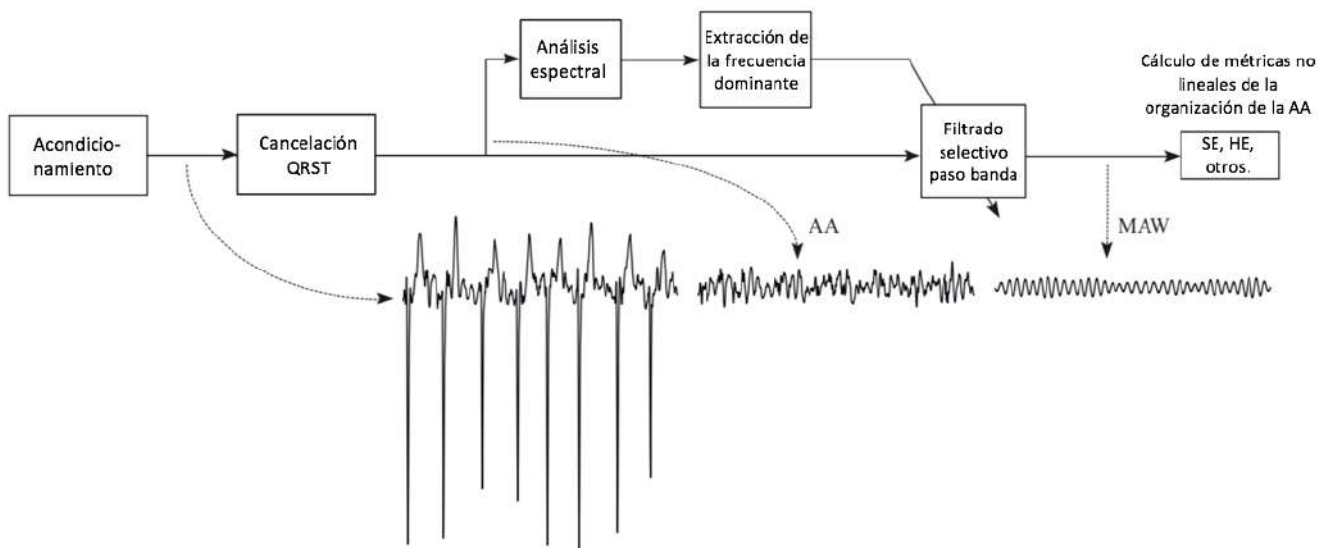


Figura 2. Esquema de la metodología seguida en el acondicionamiento de la señal y el procesado de los registros, acompañado de las señales resultantes en cada paso hasta obtener la MAW, sobre la que se aplicarán las métricas no lineales descritas.

por amplitud en el intervalo de 3 a 9 Hz, y fue seleccionada como la frecuencia auricular dominante (FAD) [12]. La MAW fue hallada aplicando un filtrado FIR paso banda a la AA, implementado mediante la aproximación de Chebyshev, con 768 coeficientes y un ancho de banda de 3 Hz a centrado alrededor de la FAD.

El último paso en el proceso consistió en aplicar las métricas no lineales para medir la complejidad de la MAW, considerada como una serie temporal. Se calcularon los índices de SampEn y FuzzyEn, que cuantifican la existencia de patrones repetitivos en una serie temporal [18]. Además se obtuvieron también todos los HE, que cuantifican la autosimilitud estadística de las series temporales, proporcionando información sobre la tasa de recurrencia de patrones similares en series temporales a diferentes escalas [19]. En este caso, además de los HE propiamente dichos, también se obtuvieron las versiones generalizadas de primer y segundo orden, H(1) y H(2), respectivamente [19]. Por último, también se halló la energía de la MAW (eMAW), calculando la potencia media por unidad de tiempo contenida en dicha señal [13]. Un resumen del proceso aplicado a cada ECG se muestra en la Figura 2.

3.3. Evaluación de la clasificación

Para obtener una clasificación de los datos en las dos clases estudiadas, se aplicó el clasificador de subespacios KNN (K-Nearest Neighbours), y se utilizó una validación tipo cross-validation k -Folds. Para ambos casos se empleó un valor $k = 2$. Se obtuvo la precisión y el área bajo la curva ROC de todas las posibles combinaciones de parámetros, buscando aquella que proporcionara una mejor clasificación entre pacientes en los que la CVE ha tenido éxito tras un mes del procedimiento (NR), frente a los que no (RE).

4. Resultados

Se obtuvieron las curvas ROC y la precisión para todos los parámetros propuestos de forma individual, así como pa-

	FAD	eMAW	SampEn	HE	H(1)	H(2)	FuzzyEn
AUC	0,54	0,57	0,71	0,70	0,67	0,62	0,64
Acc	54,3%	60,0%	71,4%	71,4%	65,7%	62,9%	62,9%

Tabla 1. Resultados de área bajo la curva ROC (AUC) y precisión de clasificación (Acc) para discriminar pacientes de FA persistente que recidivan tras CVE correspondiente a todos los índices analizados de forma individual.

ra todas sus combinaciones. En el caso individual, el área bajo la curva ROC, así como las precisiones clasificatorias se muestran en la Tabla 1. Tomando estos índices por parejas, el mejor resultado se obtuvo para el dúo SampEn-HE, SampEn-H(1) y FuzzyEn-H(1), todos ellos un 65,7 % de precisión. Igualmente, tomados de tres en tres, la mejor opción resultó ser para SampEn-HE-H(1) con un 80,0 % de precisión. Para los grupos de cuatro índices, la mejor combinación resultó ser SampEn-HE-H(1)-FuzzyEn, con un 77,1 % de precisión. Finalmente, para combinaciones de cinco, seis o siete (todas) índices, la mejor de las precisiones fue, en cualquier caso, 74,3 %. En consecuencia, el mejor resultado de clasificación se dio para la combinación de SampEn-HE-H(1), con el ya mencionando 80,0 % de precisión y 0,8 de área bajo la curva ROC.

5. Discusión y conclusiones

El interés del presente trabajo consiste en conocer con ciertas garantías la efectividad a priori de la CVE aplicada sobre pacientes con FA persistente. Este conocimiento es clínicamente muy interesante dados los importantes riesgos que tiene dicha intervención, principalmente los relacionados con los tromboembolismos [5, 10] y permitiría incorporar cambios en el protocolo de actuación de la CVE.

La FA está asociada con la propagación caótica de reentradas múltiples en el tejido auricular. Esto provoca patrones cambiantes de actividad eléctrica, dando lugar a ondas de fibrilación que cambian tanto en el tiempo como en el espa-

cio. Debido a esta activación caótica, el remodelado electrofisiológico es un proceso no lineal. Por ello, se cree que los métodos no lineales pueden facilitar la comprensión de la función cardiovascular durante una FA. Además, es conocido que la organización de la actividad auricular tiene un papel importante en el desarrollo de la arritmia [20]. Cuanto más organizada sea una señal de actividad auricular, es menos probable que el paciente recaiga en FA tras un procedimiento de cardioversión [13]. Existen métodos no lineales que proporcionan distintas formas de medir patrones repetitivos en una señal de FA. El objetivo es encontrar una combinación de estos métodos que proporcione información útil sobre el estado de remodelado auricular.

Los resultados obtenidos de forma individual fueron aceptables en la mayoría de las variables analizadas. En este tipo de estudios se han incorporado por primera vez las métricas FuzzyEn y HE. En cuanto a la primera, debe decirse que es un buen estimador de la recurrencia en FA al cabo de un mes tras CVE, ya que mejora la precisión individual obtenida en estudios previos [12]. Además, se puede obtener una precisión clasificatoria del 77,1 % si se combina con SampEn y H(1), y ha resultado estar presente en las combinaciones con mejores resultados de índices agrupando cualquier número de variables, desde dos hasta todas. Por ello, cabe pensar que esta métrica proporciona información interesante sobre las recurrencias en pacientes con FA persistente sometidos a CVE.

Sin embargo, a pesar de que FuzzyEn mejoró el poder predictivo en la mayoría de combinaciones, los mejores resultados de precisión incluyen los exponentes de Hurst. De hecho, la mejor precisión (80,0 %) se dio para la combinación SampEn-HE-H(1). Esto sugiere que la incorporación de los exponentes de Hurst, así como su combinación con otras métricas puede constituirse como un predictor robusto del éxito del procedimiento de CVE en pacientes con FA persistente. En conclusión, determinadas métricas no lineales, adecuadamente combinadas, pueden suponer una gran ayuda en la decisión médica sobre la selección de pacientes idóneos para el procedimiento de cardioversión eléctrica, así como para evitar riesgos innecesarios que podrían ser decisivos en su recuperación. Finalmente, cabe decir que será necesario llevar a cabo estudios con un mayor número de pacientes, ya que la diferencia de precisión entre las dos mejores combinaciones es pequeña y puede verse condicionada por el tamaño de los datos.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos DPI2017-83952-C3 MINÉCO/AEI/FEDER UE, SBPLY/17/180501/000411 de la JCCLM y 002-928 de UPV-FISABIO

Referencias

- [1] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clinical Epidemiology* December 2013;6:213–220.
- [2] Colilla S, Crow A, Petkun W, Singer DE, Simon T, Liu X. Estimates of current and future incidence and prevalence of atrial fibrillation in the U.S. adult population. *Am J Cardiol* Oct 2013;112(8):1142–7.
- [3] Krijthe BP, Kunst A, Benjamin EJ, Lip GYH, Franco OH, Hofman A, Wittteman JCM, Stricker BH, Heeringa J. Projections on the number of individuals with atrial fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060. *Eur Heart J Sep* 2013;34(35):2746–51.
- [4] Hart RG, Pearce LA. Antithrombotic Therapy To Prevent Stroke in Patients with Atrial Fibrillation. *Annals of Internal Medicine* 2000;132(10):841.
- [5] Kaski JC, Arrebola-Moreno AL. Inflammation and Thrombosis in Atrial Fibrillation. *Revista Espanola de Cardiologia English Edition* 2011;64(7):551–553.
- [6] Jalife J, Kaur K. Atrial remodeling, fibrosis, and atrial fibrillation. *Trends in Cardiovascular Medicine* August 2015; 25(6):475–484.
- [7] Nattel S, Harada M. Atrial remodeling and atrial fibrillation: recent advances and translational perspectives. *Journal of the American College of Cardiology* June 2014; 63(22):2335–2345.
- [8] Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei ea. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. The Task Force for the management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *Europace* November 2016; 18(11):1609–1678.
- [9] Reiffel JA. Cardioversion for atrial fibrillation: treatment options and advances. *Pacing and clinical electrophysiology PACE* August 2009;32(8):1073–1084.
- [10] Gackowski A, Stapor M. Can we assess the risk of embolic complications of cardioversion? *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 2016;126(1-2):5–6.
- [11] Nuotio I, Hartikainen JEK, Grönberg T, Biancari F, Airaksinen KEJ. Time to cardioversion for acute atrial fibrillation and thromboembolic complications. *JAMA* August 2014; 312(6):647–649.
- [12] Alcaraz R, Rieta JJ, Hornero F. Non-invasive atrial fibrillation organization follow-up under successive attempts of electrical cardioversion. *Medical biological engineering computing* December 2009;47(12):1247–1255.
- [13] Alcaraz R, Hornero F, Rieta JJ. Noninvasive time and frequency predictors of long-standing atrial fibrillation early recurrence after electrical cardioversion. *Pacing and clinical electrophysiology PACE* October 2011;34(10):1241–1250.
- [14] Julián M, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of Hurst exponents to assess atrial reverse remodeling in paroxysmal atrial fibrillation. *Physiological measurement* November 2015;36(11):2231–2246.
- [15] Julián M, Alcaraz R, Rieta JJ. Comparative assessment of nonlinear metrics to quantify organization-related events in surface electrocardiograms of atrial fibrillation. *Computers in biology and medicine* May 2014;48:66–76.
- [16] Petrutiu S, Sahakian AV, Fisher W, Swiryn S. Manifestation of left atrial events and interatrial frequency gradients in the surface electrocardiogram during atrial fibrillation: contributions from posterior leads. *Journal of cardiovascular electrophysiology* November 2009;20(11):1231–1236.
- [17] 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.
- [18] Chen W, Zhuang J, Yu W, Wang Z. Measuring complexity using fuzzyen, apen, and sampen. *Medical Engineering Physics* 2009;31(1):61–68.
- [19] Hurst HE. Long-term storage capacity of reservoirs. *Trans Amer Soc Civil Eng* 1951;116:770–808.
- [20] Alcaraz R, Rieta JJ. Time and frequency recurrence analysis of persistent atrial fibrillation after electrical cardioversion. *Physiol Meas* May 2009;30(5):479–89.

Diferencias morfológicas en ECG de adultos que tuvieron Crecimiento Intrauterino Retardado

N. Ortigosa¹, M. Rodríguez-Lopez^{2,3}, R. Bailón^{4,5}, A. Sepulveda^{2,6}, F. Crispi², P. Laguna^{4,5}

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

² Fetal i+D Medicine Research center, BCNatal-Barcelona Center for Maternal-Fetal and Neonatal Medicine (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Deu). IDIBAPS, Universitat de Barcelona (CIBER-ER), merida.rdguez@gmail.com, ferispi@gmail.com

³ Pontificia Universidad Javeriana seccional Cali, Colombia

⁴ Instituto de Investigación en Ingeniería (I3A), Universidad de Zaragoza, rbailon.laguna@unizar.es

⁵ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

⁶ Fetal Medicine Unit, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago de Chile

Resumen

Numerosos estudios asocian el crecimiento intrauterino retardado (CIR) durante el embarazo y el nacimiento pretérmino con un mayor riesgo de tener enfermedades cardiovasculares durante la edad adulta. El objetivo de este estudio es analizar y relacionar los cambios en la morfología del corazón de adultos que tuvieron CIR con cambios en el ECG de superficie, comprobando si dichos cambios se corresponden con los encontrados en estudios previos con pre-adolescentes que nacieron con bajo peso. Habrá dos grupos de estudio: 33 sujetos que nacieron a término con peso adecuado a su edad gestacional (grupo control) y 54 sujetos que presentaron CIR al nacer.

El ángulo entre los vectores dominantes del QRS y de la onda T en el plano XY (plano frontal) mostró tener valores significativamente superiores en los controles adultos (13.49 ± 13.65) frente a los adultos que presentaron CIR (9.26 ± 8.47). Así, el estudio muestra una disminución de 4° en el ángulo entre QRS y onda T en el plano frontal para adultos que tuvieron CIR. Esta disminución podría utilizarse como un marcador del riesgo cardiovascular para adultos que tuvieron CIR.

1. Introducción

Una de las principales causas de bajo peso al nacer es el crecimiento intrauterino retardado (CIR) [1], que es diagnosticado cuando el peso del feto es inferior al percentil diez correspondiente al número de semanas gestacionales en cada momento [2,3].

Numerosos estudios han analizado y demostrado la correlación entre presentar bajo peso al nacer y el riesgo de enfermedades cardiovasculares en la edad adulta, como puedan ser enfermedades coronarias [4] o isquémicas [5].

Estudios previos han demostrado que existen diferencias morfológicas del corazón en sujetos que tuvieron CIR, y que estas diferencias pueden observarse en diferentes medidas del ECG, obtenidas a partir del vectocardiograma en preadolescentes [6,7].

En este trabajo se plantea analizar registros de ECG pertenecientes a sujetos adultos que tuvieron CIR al nacer, con el objetivo de observar si las diferencias morfológicas del corazón pueden observarse en adultos, y si las mismas se corresponden con las encontradas en señales electrocardiográficas de preadolescentes.

2. Materiales

La cohorte de este estudio está compuesta por 87 adultos divididos en dos grupos: 33 sujetos que nacieron a término con peso adecuado a su edad gestacional (grupo control), y otro grupo de 54 sujetos que tuvieron crecimiento intrauterino retardado al nacer. La Tabla 1 muestra la distribución por sexos de los sujetos cuyos ECGs han sido analizados en este estudio.

Grupo	Hombre	Mujer
Control	29	4
CIR	22	32

Tabla 1. Distribución por sexos de los sujetos incluidos en cada uno de los grupos control y CIR bajo estudio.

Disponemos del electrocardiograma de superficie de 12 derivaciones de todos ellos, con una duración de 10 segundos cada registro a una frecuencia de muestreo de 1000Hz.

3. Métodos

3.1. Vectores dominantes de QRS y onda T

Sobre las 12 derivaciones registradas para cada sujetos, en primer lugar se procede a la delineación del inicio y final de los complejos QRS y de las ondas T [8].

Seguidamente, se procede a reducir el ruido de base. A continuación, se obtiene el vectocardiograma de longitud K muestras mediante la matriz de Dower inversa [9].

Una vez se ha obtenido la actividad eléctrica en las tres direcciones perpendiculares (X, Y, Z), junto con la delineación de inicio y final de los complejos QRS y de las ondas T, se tiene la dirección dominante del frente eléctrico durante dichas etapas del ciclo cardiaco, formando lo que se conocen como loops [10]. A continuación, los loops correspondientes a la despolarización y a la repolarización se alinean con respecto al primer loop disponible en el registro. Para ello, se utiliza el método de alineamiento presentado en [11], de modo que la influencia de los ciclos respiratorios también se elimina. En las Figuras 1 y 2 se muestran dos ejemplos de los loops obtenidos para un paciente del grupo control y otro del grupo CIR, respectivamente.

De este modo, para realizar el alineamiento se utilizan tres transformaciones: escalado (para expansión o compresión del loop), rotación (por los cambios rotacionales del corazón) y desplazamientos para tener sincronización temporal. Este proceso sigue la siguiente ecuación, donde Z y Z_R son las matrices $3 \times K$ y $3 \times K + 2\Delta$ de los loops y los loops alineados, respectivamente; α es el parámetro para realizar el escalado; Q es la matriz de rotación 3×3 y J_τ es la matriz con un desplazamiento τ :

$$Z = \alpha Q Z_R J_\tau$$

Tras finalizar el alineamiento se obtiene el loop promedio para cada conjunto de loops (para despolarización y repolarización, respectivamente). Finalmente, para cada uno de estos loops promedio se calculan los vectores dominantes promediando el conjunto de vectores que compone cada loop. Dichos vectores indicarán la dirección dominante del frente eléctrico a lo largo del complejo QRS y de la onda T.

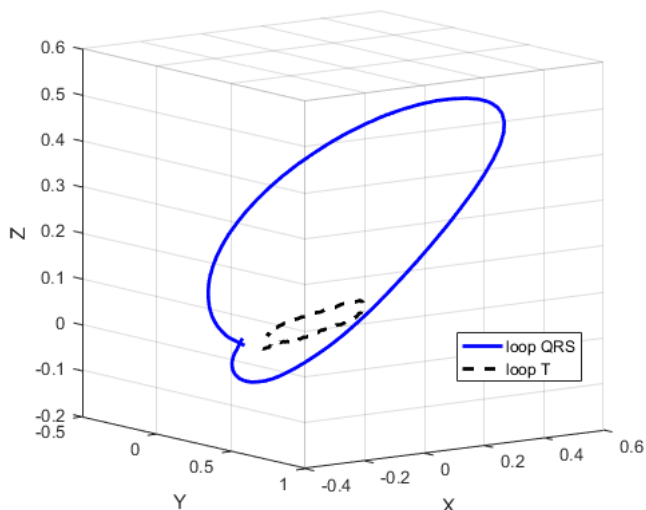


Figura 1. Loops de despolarización (QRS) y repolarización (T) de un adulto del grupo control.

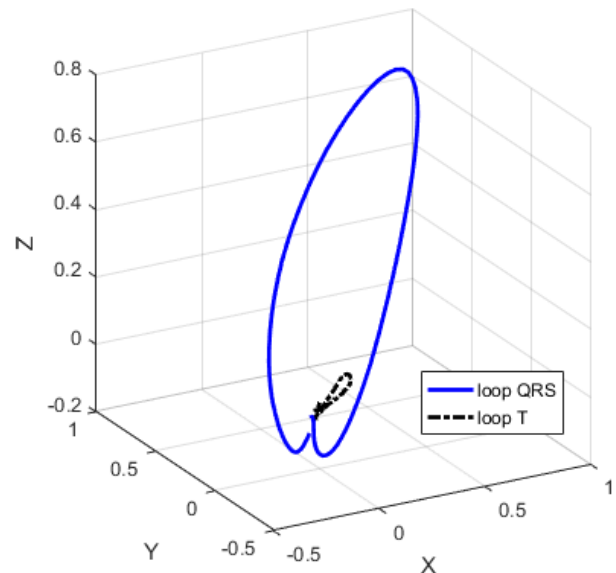


Figura 2. Loops de despolarización (QRS) y repolarización (T) de un adulto del grupo CIR.

3.2. Cálculo de ángulos

Una vez obtenidos los vectores dominantes de los loops promedio de despolarización (v_{QRS}) y repolarización (v_T), obtenemos una serie de medidas de los ángulos entre ellos en el espacio, como el ángulo entre las proyecciones de dichos vectores sobre el plano frontal XY (θ_{RT-XY}), los ángulos entre cada uno de los vectores dominantes y cada uno de los tres planos ortogonales del espacio (ϕ_{R-P} o ϕ_{T-P} , donde P indica cada uno de los planos XZ, XY, YZ), y las diferencias entre ellos.

4. Resultados

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los ángulos estudiados y obtenidos a partir de los vectores dominantes de los loops de despolarización y repolarización, para los 87 adultos incluidos en el estudio. Además, en la misma Tabla se ha señalado también si los p-valores correspondientes al t-test de Student indican diferencias estadísticamente significativas.

En la misma podemos observar que el ángulo entre el vector dominante del complejo QRS y el vector dominante de la onda T proyectados sobre el plano frontal XY es significativamente inferior (alrededor de 4°) para los adultos que presentaron CIR al nacer frente al grupo de control.

También podemos observar que el ángulo entre el vector dominante del loop correspondiente al complejo QRS y el plano XY es también significativamente inferior en el caso de los adultos CIR, mientras que el ángulo entre dicho vector y el plano XZ es ligeramente inferior para el caso de los controles.

Asimismo, a la vista de los resultados mostrados en las tablas, las diferencia en grados entre los ángulos de los vectores de despolarización y de repolarización y los

planos XY e YZ son superiores (alrededor de 7°) en el caso de los adultos pertenecientes al grupo control frente al grupo CIR.

Por otra parte, comparando los resultados obtenidos en este estudio con población adulta frente a los obtenidos en los análisis resultantes de los registros de pre-adolescentes (presentados en las referencias [6-7]), podemos ver que el ángulo entre los vectores dominantes de los loops correspondientes a los complejos QRS y a las ondas T (θ_{RT-XY}) también eran estadísticamente significativamente mayores para el grupo control. Por tanto, el ángulo indicado puede ser un parámetro de interés a estudiar junto con el resto de ángulos que han mostrado presentar diferencias significativas.

Será necesario realizar más estudios sobre cohortes mayores de pacientes para analizar el comportamiento de dichas características en el electrocardiograma de superficie.

Ángulo medido	Grupo CIR	Grupo control
θ_{RT-XY}	9.26±8.47*	13.49±13.65*
φ_{R-XZ}	35.68±6.12*	32.85±9.08*
φ_{R-XY}	22.07±11.80**	29.47±13.02**
φ_{R-YZ}	44.17±9.81	40.72±12.05
φ_{T-XZ}	33.15±10.67*	29.39±10.61*
φ_{T-XY}	14.48±9.41	14.42±8.68
φ_{T-YZ}	51.52±12.13	54.83±9.52
$\varphi_{R-XZ} - \varphi_{T-XZ}$	2.54±8.43	3.45±9.61
$\varphi_{R-XY} - \varphi_{T-XY}$	7.59±14.58**	15.05±14.14**
$\varphi_{R-YZ} - \varphi_{T-YZ}$	-7.35±13.96**	-14.11±13.99**

Tabla 2. Resultados obtenidos para los ángulos medidos en grados (media ± desviación estándar) para cada uno de los grupos incluidos en el estudio (controles y CIR). Los valores que indican diferencias significativas están indicados con * (si p -valor < 0.05) o ** (si p -valor < 0.01).

5. Conclusiones

En este trabajo hemos presentado un estudio que analiza las diferencias, en el electrocardiograma de superficie, de los registros correspondientes a adultos que presentaron crecimiento intrauterino retardado en el momento de nacer frente a adultos que nacieron a término con peso adecuado.

Para ello, se han analizado los ángulos entre los vectores dominantes de los loops de los complejos QRS (despolarización) y de la onda T (repolarización), encontrando diferencias estadísticamente significativas que

permitirían definir marcadores de riesgo cardiovascular en adultos que nacieron CIR.

Agradecimientos

N. Ortigosa agradece la financiación de la Generalitat Valenciana en el proyecto Prometeo/2017/102, y del MINECO en el proyecto MTM2016-76647-P.

R. Bailón y P. Laguna agradecen la financiación de MINECO y FEDER en el proyecto DPI2016-75458-R, del Gobierno de Aragón y Fondo Social Europeo mediante Grupo de Referencia T39-17R, y de CIBER en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) a través del Instituto de Salud Carlos III y FEDER.

Este Proyecto ha sido financiado con el apoyo del programa Erasmus + de la Unión Europea (Framework Agreement number: 2013-0040). Esta publicación (comunicación) refleja únicamente el análisis del autor, y la Comisión no se hace responsable de ningún uso que pueda realizarse de la información contenida en el mismo. Asimismo se ha recibido financiación de la Fundación “la Caixa” bajo el proyecto LCF/PR/GN14/10270005, el Instituto de Salud Carlos III (INT16/00168, PI15/00130, PI14/00226, PI17/00675) integrados en el Plan Nacional de I+D+I y cofinanciados por el ISCIII-Subdirección General de Evaluación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) “Una manera de hacer Europa”, Cerebra Foundation for the Brain Injured Child (Carmarthen, Wales, UK) y AGAUR 2017 SGR grant no 1531.

Referencias

- [1] Diderholm B. Perinatal energy metabolism with reference to IUGR and SGA: studies in pregnant women and newborn infants. *Indian J Med Res*, vol. 130, 2009, pp 612-617.
- [2] Committee on Practice Bulletins-Gynecology, American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington, USA. Intrauterine growth restriction, clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*, vol 72, sup 1, 2001, pp 85-96.
- [3] Figueras F, Gratacos E. Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol. *Fetal Diagn Ther*, vol 36, sup 2, 2014, pp 86-98.
- [4] Barker D. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ*, vol 301, sup 6761, 1990, pp 1111.
- [5] Ueda P, Cnattingius S, Stephansson O, Ingelsson E, Ludvigsson J, Bonamy A. Cerebrovascular and ischemic heart disease in young adults born preterm: a population-based Swedish cohort study. *Eur J Epidemiol*, vol 24, sup 4, 2014, pp 256-60.
- [6] Ortigosa N, Crispi F, Bailón R, Rodríguez-Lopez M, Gratacós E, Savari S, Sitges M, Bijmens B, Laguna P. Heart Morphology Differences Induced by Intrauterine Growth Restriction and Premature Birth Measured on the ECG in Pre-adolescents. *Computing in Cardiology*, vol 42, 2015, pp 797-800.
- [7] Ortigosa N, Rodríguez-Lopez M, Bailón R, Sarvari S, Sitges M, Gratacos E, Bijmens B, Crispi F, Laguna P. Heart

morphology differences induced by intrauterine growth restriction and preterm birth measured on the ECG at preadolescent age. *Journal of Electrocardiology*, vol 49, sup 3, 2016, pp 401-409.

- [8] Martínez J, Almeida R, Olmos S, Rocha A, Laguna P. A Wavelet-Based ECG Delineator: Evaluation on Standard Databases. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 51, sup 4, 2004, pp 570-581.
- [9] Edenbrandt L, Pahlm O. Vectorcardiogram synthesized from a 12-lead ECG: Superiority of the inverse Dower matrix. *J Electrocardiol*, vol 21, 1988, pp 361-367.
- [10] Sörnmo L, Laguna P. Bioelectrical signal processing in cardiac and neurological applications. Elsevier, 2005. ISBN: 978-0-12-437552-9.
- [11] Sörnmo L. Vectorcardiographic loop alignment and morphologic beat-to-beat. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 45, 1998, pp 1401-1413.

Combinación de Filtrado Notch y Transformada Wavelet para Mejorar la Reducción del Ruido de Red en Electrogramas de Fibrilación Auricular

¹M. Martínez-Iniesta, ¹J. Ródenas, ²JJ. Rieta, ¹R. Alcaraz

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

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

Resumen

El análisis de electrogramas intraauriculares (EGMs) es todavía hoy un aspecto clave para mejorar el conocimiento de los mecanismos que desencadenan y mantienen la fibrilación auricular (FA). Sin embargo, el proceso de registro de estas señales normalmente se ve afectado por el ruido provocado por la red eléctrica. Para eliminar esta interferencia, en los sistemas actuales de registro se suelen utilizar filtros notch sencillos, aunque es ampliamente conocido que introducen fraccionamiento artificial en los EGMs que dificulta su interpretación precisa. Así pues, el desarrollo de algoritmos capaces de eliminar dicha perturbación sin alternar la morfología original de la señal sigue siendo un reto sin resolver. Con este propósito, el presente trabajo introduce una metodología basada en la aplicación conjunta de un filtrado notch y de la transformada Wavelet (TW). Para su validación se han utilizado 100 EGM unipolares generados de forma sintética y, por lo tanto, libres de interferencias, a las que se han añadido diferentes niveles de ruido de red. Los EGM originales y los filtrados se han comparado mediante un índice de correlación de signo adaptativo, calculado tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia. Los resultados obtenidos han mostrado que el método propuesto consigue mejoras de correlación entre el 4 y el 15 % en ambos dominios, con respecto a un simple filtro notch. Por tanto, se puede concluir que es capaz de reducir eficientemente altos niveles de ruido de red, preservando casi intacta la morfología original de los EGMs.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es uno de los retos cardiovasculares más importantes en los países occidentales [1], que afecta aproximadamente al 1,5–2 % de la población adulta [2]. Es la arritmia cardíaca más frecuente en la práctica clínica y su prevalencia aumenta con la edad [2]. Además, su repercusión económica en los sistemas de salud es muy elevada, ya que el coste de su diagnóstico y tratamiento supone alrededor del 15 % del presupuesto de todas las enfermedades cardíacas [3]. De hecho, en la actualidad todavía no se conocen totalmente los mecanismos que la originan y la mantienen [4, 5], haciendo que todos los tratamientos

disponibles sean poco efectivos. A este respecto, cabe indicar como ejemplo que la ablación por catéter, considerada actualmente una de las terapias principales en FA, solo ha mostrado tasas de éxito a largo plazo entorno al 50 %. Esta situación hace imprescindible seguir avanzando en el procesamiento e interpretación de los EGMs obtenidos desde los sistemas actuales de electrofisiología cardíaca [6], para así poder avanzar en el conocimiento de la arritmia y determinar las estructuras cardíacas que contribuyen a su mantenimiento y perpetuación [7].

Los EGMs se registran directamente sobre el tejido cardíaco y, por tanto, proporcionan información sobre el estado eléctrico del miocardio subyacente [8]. Más concretamente, ofrecen información sobre el tiempo, la dirección y la complejidad de las activaciones auriculares locales dentro del campo de observación de los electrodos empleados para su adquisición [9]. En consecuencia, estas señales son la mejor fuente de información para mejorar el conocimiento actual sobre la FA [10]. Sin embargo, durante su adquisición suelen verse afectadas por la superposición de señales eléctricas tales como interferencias de alta frecuencia generadas por los equipos eléctricos existentes en el laboratorio de electrofisiología, ruido inducido por movimientos musculares, componentes de baja frecuencia asociados a la respiración o a un contacto pobre o inestable de los electrodos y movimientos del paciente, y finalmente, la interferencia de 50 o 60 Hz provocada por la red eléctrica [11, 12].

Precisamente, esta última interferencia es un ruido electromagnético típico, generado principalmente por la radiación de las líneas de alimentación eléctrica y que se suele inducir en los equipos médicos de instrumentación a través de sus cables de captación de señales y también a través del cuerpo del paciente, con una amplitud comparable a la señal electrofisiológica [13]. Para reducir esta perturbación, los equipos actuales de registro emplean filtros notch bastante sencillos. Aunque esta herramienta es capaz de eliminar grandes cantidades de ruido, también modifica sustancialmente la morfología de la señal capturada. De hecho, es ampliamente conocido que introduce fraccionamiento artificial en los EGMs que puede llevar a una in-

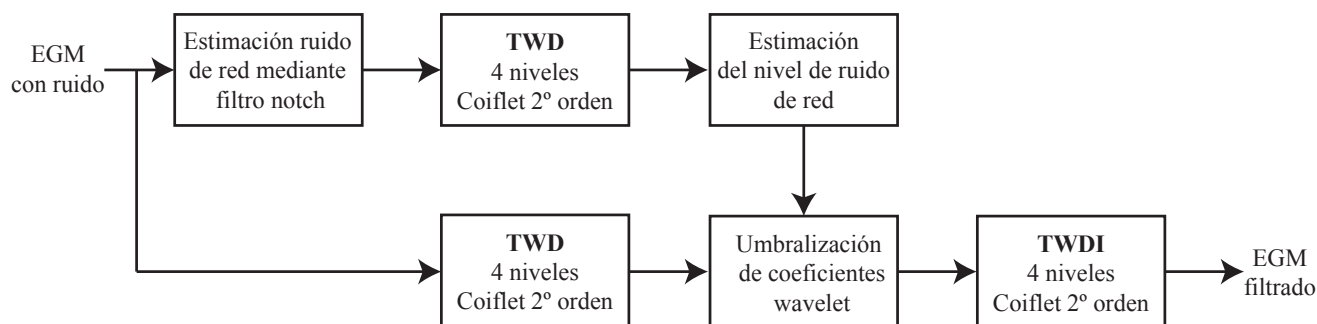


Figura 1. Diagrama de bloques del algoritmo propuesto para reducir el ruido de red en EGMs de FA.

correcta interpretación de los mismos, así como a realizar inapropiados diagnósticos o a aplicar tratamientos equivocados [12]. Para evitar esta situación, en este trabajo se propone un algoritmo basado en la aplicación conjunta de un filtrado notch y de la transformada Wavelet (TW), el cual es capaz reducir la interferencia de la red eléctrica presente en los EGMs de FA, preservando casi intacta la morfología original de las señales.

2. Método

2.1. Base de datos

Con el objetivo de alcanzar una cuantificación precisa de la reducción de ruido conseguida, así como de la conservación de la morfología de la señal original, el algoritmo propuesto se validó utilizando 100 EGMs unipolares, completamente limpios y de 10 segundos de duración, generados sintéticamente mediante el modelo publicado por Oesterlin [14]. A continuación, estas señales fueron contaminadas con un ruido que simulaba la interferencia de red, el cual consistía en una señal sinusoidal con una frecuencia principal de 50 Hz y sus dos primeros armónicos [15]. De esta forma, se obtuvieron registros con relaciones señal/interferencia (SIR) de 25, 20, 15, 10 y 5 dB.

2.2. Algoritmo de reducción de ruido

Debido a su capacidad para tratar con éxito señales con transitorios e intervalos discontinuos, la TW ha sido ampliamente utilizada en la eliminación de ruidos presentes en señales fisiológicas. Esta herramienta permite descomponer una señal en diferentes escalas de tiempo y frecuencia, y su versión discreta se puede implementar fácilmente por un banco de filtros de respuesta a impulsos finitos, de paso bajo y paso alto, seguidos de etapas de diezmado. A continuación, los coeficientes wavelet obtenidos son umbralizados para separar la información fisiológica del ruido y la señal filtrada es obtenida mediante el cálculo de la TW inversa. Claramente, la elección de un valor umbral adecuado es un aspecto clave en este proceso para poder lograr una reducción de ruido satisfactoria.

Aunque la umbralización de los coeficientes wavelet ha sido ampliamente tratada en la literatura, siempre se ha considerado que el ruido a eliminar presenta una distribución estadística normal [16]. Evidentemente, éste no es el caso de la interferencia de red y, por ello, se propone un nuevo

método para la determinación de los umbrales a emplear en cada escala wavelet para poder eliminar este ruido de forma eficiente en los EGMs de FA. Así pues, el EGM con ruido se hace pasar inicialmente por un filtro notch centrado en la frecuencia de 50 Hz, con un ancho de banda de 2 Hz y un diseño forward/backward que evita que se produzcan retardos de fase. Restando las señales de entrada y de salida de dicho filtro se obtiene una estimación del ruido de red, el cual se descompone en cuatro niveles mediante una TW discreta (TWD) con una función Coiflet de segundo orden como wavelet madre. A continuación, dado que los EGMs fueron generados con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz, se estima el nivel de ruido provocado por la interferencia de red y sus armónicos, que se concentra en las escalas 2, 3 y 4 de la descomposición, para obtener de esta forma los límites a aplicar en la umbralización de los coeficientes wavelet, de acuerdo a la Figura 1.

Precisamente, los valores obtenidos permitirán diferenciar entre la información propia del EGM y el ruido de red en las escalas wavelet 2, 3 y 4, de tal forma que aquellos coeficientes por debajo del límite correspondiente se establecerán directamente a cero y a aquellos por encima se les restará dicho valor para evitar que exista una discontinuidad entre ambos casos [16]. De este modo, la señal filtrada se reconstruirá a partir de los coeficientes wavelet resultantes a través de la TWD inversa.

2.3. Evaluación de la reducción del ruido

Para valorar los resultados obtenidos con el método propuesto, también se ha considerado un filtrado similar al utilizado por los equipos actuales de registro. Así pues, se ha implementado un filtro notch con una estructura Butterworth de segundo orden, centrado en la frecuencia de 50 Hz con un ancho de banda de 2 Hz y un diseño bidireccional.

Para determinar la alteración sufrida por la morfología de la señal original, así como la cantidad de ruido eliminada, se ha obtenido un índice de correlación de signo adaptativo (ICSA) entre la señal original (sin ruido) y la señal filtrada para cada uno de los dos métodos empleados, tanto en el dominio del tiempo como en el de frecuencia. Cabe indicar que se ha utilizado este índice en vez del clásico coeficiente de correlación de Pearson, ya que tiene en cuenta las diferencias de amplitud entre las dos señales que se comparan. Denominando $x(n)$ al EGM original sin ruido y $\hat{x}(n)$ a la

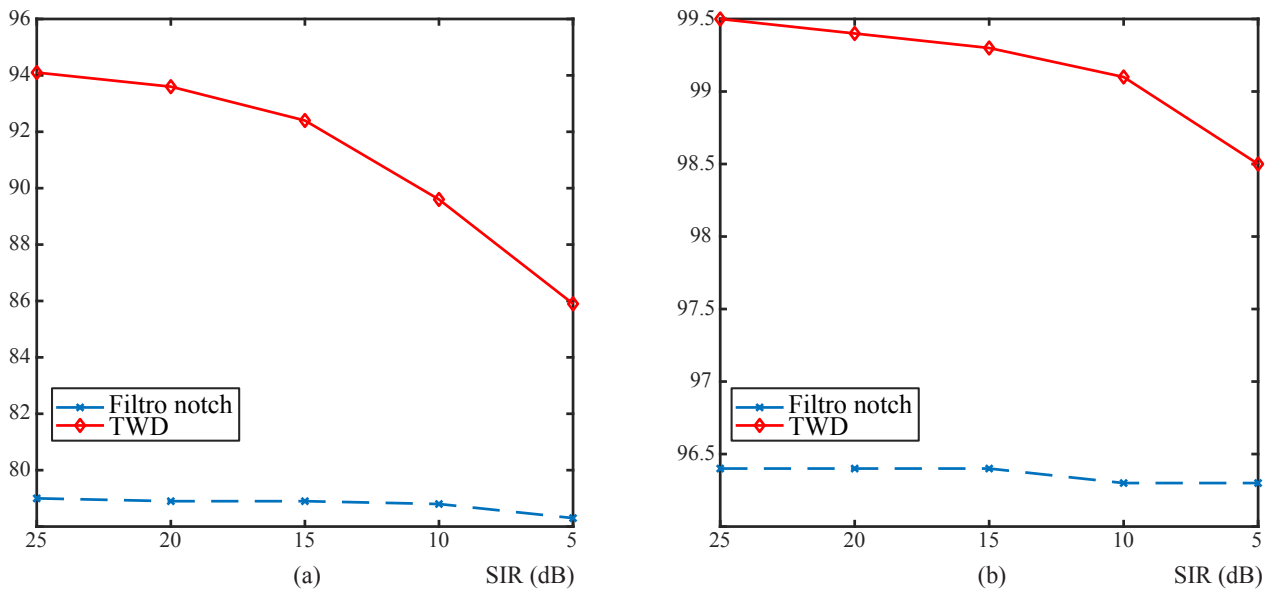


Figura 2. Valores medios de ICSA obtenidos en el dominio del tiempo (a) y en el de la frecuencia (b) para los algoritmos de reducción de ruido en el EGM analizados

señal filtrada, la expresión que define dicho índice es:

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

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

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

El umbral ξ se estableció experimentalmente en el 5 % de la desviación estándar de la señal original.

3. Resultados

Los principales resultados obtenidos se presentan en la Figura 2, donde se muestran los valores medios del parámetro ICSA, tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia, para los dos algoritmos analizados y cada uno de los niveles de SIR considerados. Puede observarse que el rendimiento del filtro notch se mantiene sin variaciones significativas a medida que aumenta el nivel de ruido, aunque en todos los casos los resultados fueron notablemente peores que los obtenidos por el algoritmo propuesto, basado en la TWD. En este último caso, se puede destacar una ligera degradación a medida que disminuye el nivel de SIR, el cual es más apreciable en el dominio del tiempo que en el de la frecuencia. Como un ejemplo gráfico, la Figura 3 muestra las señales resultantes para ambos métodos de filtrado en los dominios de tiempo y de frecuencia, considerando un nivel de SIR de 10 dB.

4. Discusión y conclusiones

Hoy en día, el análisis de la actividad eléctrica auricular juega un papel clave en la mejora del conocimiento de los mecanismos que desencadenan y mantienen la FA. Además, los registros de EGM capturados directamente sobre las aurículas también proporcionan información

esencial para guiar la ablación con catéter, actualmente una de las terapias principales para el tratamiento de esta arritmia. En este contexto, el preprocesado adecuado de los EGMs juega un papel fundamental para lograr un análisis lo más preciso y fiable posible. Sin embargo, este aspecto no ha recibido suficiente atención en la literatura. De hecho, los sistemas actuales de registro típicamente solo incluyen un filtro notch sencillo para reducir la interferencia de la red eléctrica en la adquisición de los EGMs, aunque éste modifica significativamente la morfología de la señal tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia, de acuerdo a los resultados que hemos obtenido en este trabajo y las observaciones de otros estudios previos [12]. También es importante señalar que este filtrado provoca una alteración similar en los registros de EGM independientemente del nivel de ruido, perturbando completamente incluso las señales con una interferencia muy pequeña. Así pues, su uso podría implicar la pérdida de información clínicamente útil, así como también podría enmascarar la relación entre la morfología de los registros de EGM y los mecanismos electrofisiológicos subyacentes de la FA.

Contrariamente, el algoritmo propuesto ha demostrado la capacidad de reducir la interferencia de la red eléctrica, incluso para valores tan bajos de SIR como 5 y 10 dB. Además, también ha mostrado ser capaz de conservar casi intacta la morfología del EGM, en los dominios del tiempo y de la frecuencia, como se muestra en la Figura 3. Conviene destacar que para un SIR de 20dB, recomendado como el menor umbral para discernir pequeños cambios en registros de EGM [11], se obtiene una mejora del 13 % y el 3 % en el parámetro ICSA en el dominio del tiempo y la frecuencia, respectivamente. Por último, cabe indicar que también se podría incorporar fácilmente a cualquier sistemas de registro debido a que su implementación es tremendamente simple. No obstante, todavía requiere de una validación en registros reales, la cual se presentará a la comunidad científica en trabajos futuros.

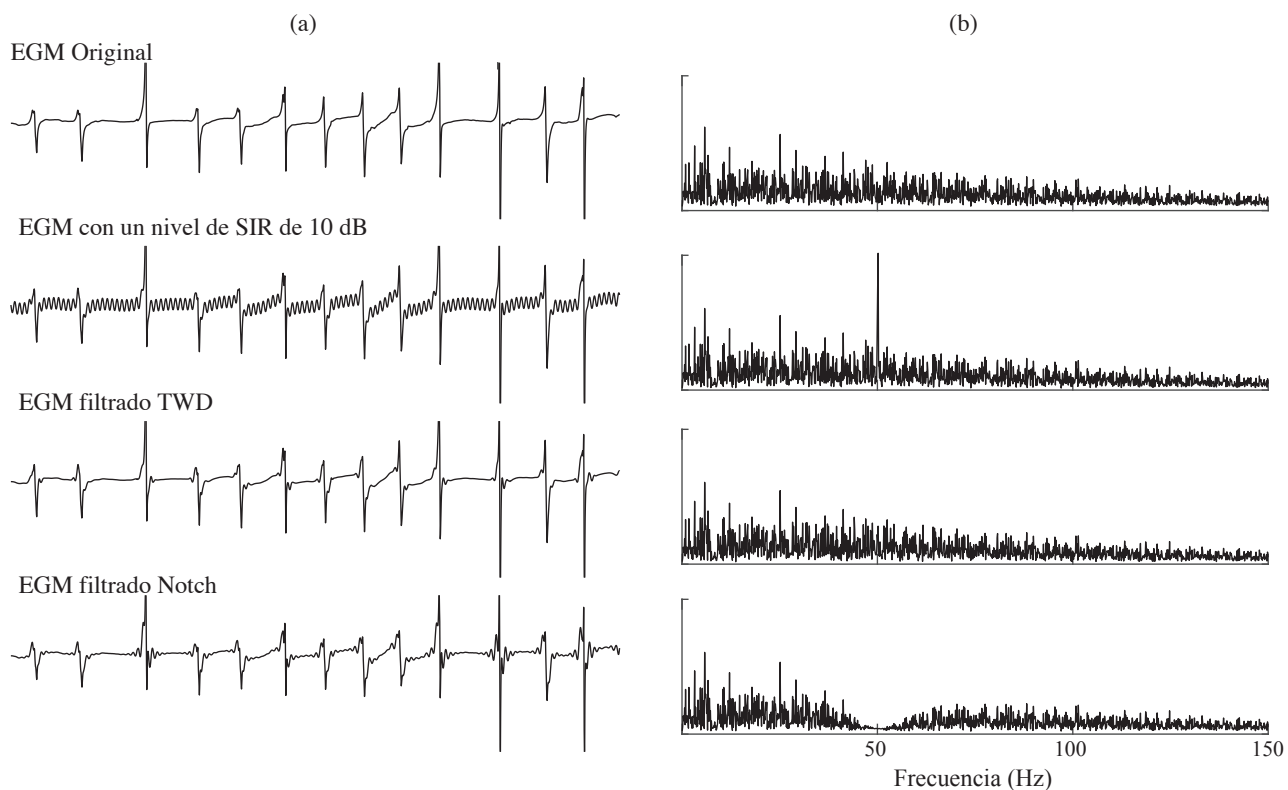


Figura 3. Ejemplo típico de las señales de EGM resultantes para los dos métodos de eliminación de ruido analizados en los dominios de tiempo (a) y de la frecuencia (b), para un nivel de SIR de 10 dB.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado a través de los proyectos DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE y SBPLY/17/180501/000411 de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] Potter BJ, Le Lorier J. Taking the pulse of atrial fibrillation. *The Lancet* July 2015;386(9989):113–115.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clinical Epidemiology* December 2013;6:213–220.
- [3] Wodchis WP, Bhatia RS, Leblanc K, Meshkat N, Morra D. A review of the cost of atrial fibrillation. *Value in Health* December 2011;15(2):240–248.
- [4] Schnabel RB, Yin X, Gona P, Larson MG, Beiser AS. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study. *The Lancet* 2015;88(9):815–815.
- [5] Schotten U, Dobrev D, Platonov PG, Kottkamp H, Hindricks G. Current controversies in determining the main mechanisms of atrial fibrillation. *Journal of Internal Medicine* April 2016;279(5):428–438.
- [6] Latchamsetty R, Morady F. *Atrial Fibrillation Ablation*, volume 69. University of Michigan, Ann Arbor, Ann Arbor, United States, January 2018.
- [7] Koutalas E, Rolf S, Dinov B, Richter S, Arya A, Bollmann A, Hindricks G, Sommer P. Contemporary Mapping Techniques of Complex Cardiac Arrhythmias - Identifying and Modifying the Arrhythmogenic Substrate. *Arrhythmia electrophysiology review* May 2015;4(1):19–27.
- [8] de Bakker JMT, Wittkamp FHM. The pathophysiologic basis of fractionated and complex electrograms and the impact of recording techniques on their detection and interpretation. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* April 2010;3(2):204–213.
- [9] Stevenson WG, Soejima K. Recording techniques for clinical electrophysiology. *Journal of cardiovascular electrophysiology* September 2005;16(9):1017–1022.
- [10] 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. *Cardiovascular Research* April 2016;109(4):467–479.
- [11] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist: part I: electrogram acquisition. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* November 2011;4(6):965–973.
- [12] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist: part II: signal processing and artifact. *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology* November 2011;4(6):974–981.
- [13] Prutchi D, Norris M. Design and Development of Medical Electronic Instrumentation. *A Practical Perspective of the Design, Construction, and Test of Medical Devices*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., January 2005.
- [14] Oesterlein TG, Lenis G, Rudolph DT, Luik A, Verma B, Schmitt C, Dssel O. Removing ventricular far-field signals in intracardiac electrograms during stable atrial tachycardia using the periodic component analysis. *Journal of Electrocardiology* March 2015;48(2):171–180.
- [15] Warmerdam GJJ, Vullings R, Schmitt L, Van Laar JOEH, Bergmans JWM. A fixed-lag kalman smoother to filter power line interference in electrocardiogram recordings. *IEEE Trans Biomed Eng* 08 2017;64(8):1852–1861.
- [16] Donoho DL, Johnstone IM. Adapting to unknown smoothness via wavelet shrinkage. *Journal of the American Statistical Association* January 1995;90(432):1200–1224.

Detección automática de calidad de electrogramas para la identificación de reentradas eléctricas durante fibrilación auricular mediante mapa de fase 3D

A. Costoya Sánchez¹, A.M. Climent^{1,2}, A. Liberos¹, S.M. Narayan³, F. Atienza², M.S. Guillem¹, M. Rodrigo¹

¹ Instituto ITACA, Universitat Politècnica de València, València, España, alcossan@etsii.upv.es

² Hospital GU Gregorio Marañón, IiSGM, CIBERCV, Madrid, España; ³ Cardiolvascular Department, Stanford University, CA, USA

Resumen

La localización de las reentradas de la actividad eléctrica que dirigen la fibrilación auricular es esencial para las terapias de ablación. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la calidad de las señales utilizadas para la identificación de reentradas mediante análisis de fase en mapas 3D, y la automatización de este proceso de revisión de señales.

Se realizaron 259 registros de electrogramas en 29 pacientes con catéteres tipo basket de 64 electrodos que fueron revisados por un observador para identificar aquellos de baja calidad. Descartando los rotors localizados en regiones con registros de baja calidad se incrementó el área bajo la curva ROC del modelo de detección desde 0.69 a 0.80. Con los electrogramas registrados se entrenó un algoritmo clasificador para identificar aquellos de baja calidad de forma automática, obteniendo una sensibilidad de 0.91 y especificidad de 0.85. Aplicando este algoritmo automático para el descarte de señales ruidosas, se mantuvo un área bajo la curva de 0.80 en la detección de rotors. El descarte de rotors en regiones con electrogramas registrados de forma inadecuada mejoró significativamente la especificidad del modelo de detección mediante fase 3D. Además, las señales de alta y baja calidad presentaron diferencias significativas en ciertos parámetros, haciendo viable su identificación automática.

1. Introducción

La localización de las áreas causantes de la fibrilación auricular (FA) es fundamental para los procedimientos de ablación, ya que se ha demostrado que el aislamiento eléctrico de dichas regiones de resto de la aurícula mejora el pronóstico de estos pacientes [1]. Uno de los procedimientos seguidos para la determinación de dichas áreas es el registro de los electrogramas (EGM) de la aurícula para determinar la localización de reentradas funcionales de la actividad eléctrica (o rotors), que se supone son causantes del mantenimiento de la FA [2].

El análisis de los EGMs puede ser realizado por activaciones o mediante fase [3]. En el primer caso, se localizan las reentradas mediante la caracterización del frente de onda (Figura 1B), mientras que en el segundo se identifican las singularidades de fase presentes tras la transformada de fase de la señal, que marcan la posición de la reentrada eléctrica (Figura 1C). Ambos métodos son representables mediante mapas 2D o 3D, presentando estos

últimos la ventaja de considerar la geometría del registro en el cálculo de la localización de las reentradas.

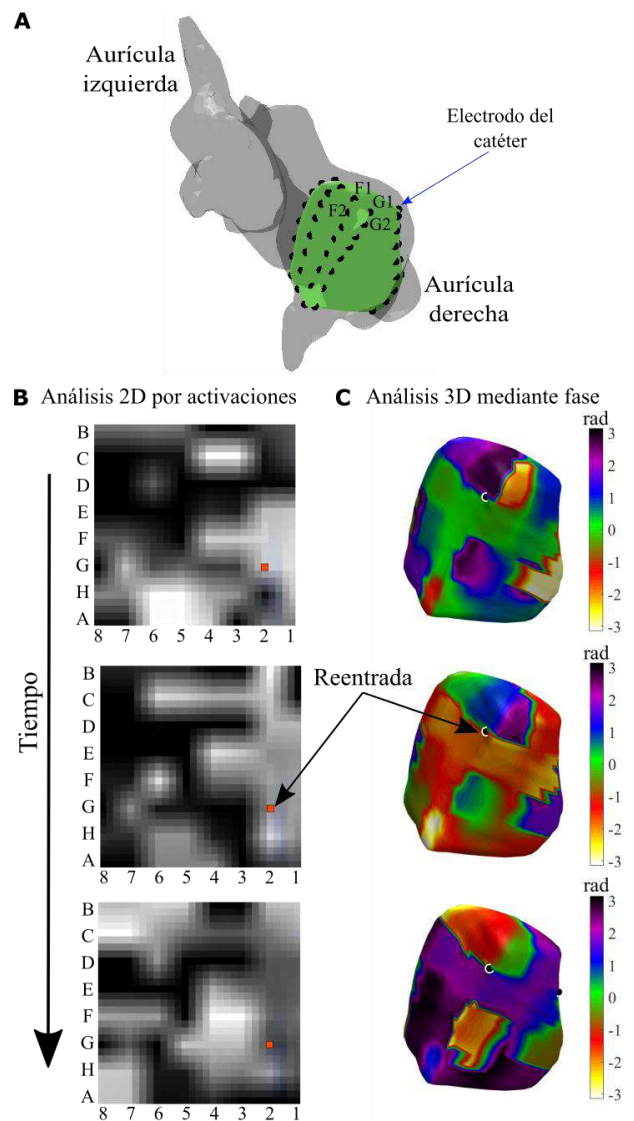


Figura 1. Ejemplo de análisis de activaciones y fase. **A.** Posición del catéter tipo basket dentro de la aurícula derecha (electrodos marcados con puntos negros). **B.** Secuencia del análisis 2D de activaciones mediante FIRM. **C.** Secuencia del análisis 3D mediante fase.

Sin embargo, las señales auriculares se ven afectadas por ruido de distintas causas, como el mal contacto del electrodo o la presencia de componentes ventriculares en el registro. Este ruido puede causar interferencias en el cálculo del mapa de fases y en el análisis de activaciones, provocando la aparición de falsos positivos en regiones no causantes de FA. Sin embargo, la revisión manual de estos registros con el fin de anotar aquellos que presentan altas cantidades de ruido requiere una gran inversión de tiempo.

Por ello, el objetivo de este trabajo es comprobar la mejora en la detección de rotores y su localización al descartar regiones auriculares en las que el registro de los EGMs no se produjo de forma apropiada, así como establecer un algoritmo capaz de identificar estas señales de forma automática.

2. Metodología

2.1. Base de datos

La base de datos consta de 259 registros de EGM auriculares obtenidos mediante catéteres intracavitarios tipo basket de 64 electrodos pertenecientes a un total de 29 pacientes del servicio de electrofisiología del Hospital GU Gregorio Marañón. Dicho estudio fue aprobado por el comité de ética de dicho hospital y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

Todos los EGMs de la base de datos fueron revisados manualmente y anotados en las clases descartable, si se consideró que era una señal de baja calidad por alta cantidad de ruido, o no descartable, en caso contrario.

2.2. Modelo de detección 3D de rotores mediante fase

Las EGMs auriculares fueron preprocesados mediante un filtro paso banda entre 2 y 20 Hz seguido de un filtro paso banda con un ancho de banda de 2 Hz centrado en la frecuencia dominante más alta (HDF) de cada aurícula [4] obtenida como el percentil 95 de las frecuencias dominantes (DF) de los EGMs no descartables de la misma. Además, con el fin de aumentar la resolución del modelo, se interpolaron las señales filtradas para crear una malla con 1026 nodos (Figura 1A). Posteriormente, la detección de rotores fue realizada mediante la aplicación de la transformada de Hilbert a las señales filtradas interpoladas, obteniendo el mapa de fases de la aurícula (Figura 1C), y la identificación de las singularidades de fase [4]. Sólo se consideraron aquellos rotores que describieron una vuelta completa sobre si mismos [5]. Para la determinación de la localización de los rotores, se seleccionó para cada rotor aquel nodo que más fue frecuentado por la singularidad de fase. Seguidamente, se asignó su posición a la del electrodo más próximo al mismo y se extendió a la de los electrodos contiguos (superior, inferior y laterales).

Los resultados se compararon con los obtenidos por FIRM (Focal Impulse and Rotor Modulation) [1]. FIRM es un método 2D basado en activaciones (Figura 1B) que usa el software comercial de Topera (Abbott Electrophysiology, Menlo Park, CA, USA) para la detección de rotores y su localización en la aurícula. Los rotores obtenidos en FIRM fueron extendidos a los electrodos contiguos, como en el

caso del análisis 3D de fase, para compensar el movimiento de dichas reentradas. El modelo de detección se aplicó sólo a los 144 registros cuya duración estuvo entre 2 y 6 s, con una media de 4.1 ± 0.9 s de duración y 12.6 ± 9.6 electrodos descartables.

2.3. Algoritmo clasificador

Para entrenar este algoritmo clasificador se utilizó la totalidad de la base de datos: 1457 EGMs anotados como descartables y 6809 como no descartables. En su entrenamiento se seleccionó una muestra aleatoria de 729 EGMs de cada clase. De cada una de estas señales se calcularon 32 parámetros con los que se alimentó el algoritmo, como la densidad espectral de potencia (DEP) en distintas bandas del espectro de la señal cruda y preprocesada con un paso banda entre 2 y 20 Hz, la DEP en armónicos y subarmónicos de la DF, las propias DF de la señal cruda y preprocesada, la curtosis y el ratio del valor absoluto de la derivada máxima respecto a la media.

2.4. Descarte de electrogramas

El descarte de rotores detectados en regiones con EGMs anotados como descartables se aplicó mediante dos criterios. En el criterio estricto se ignoraron los rotores calculados cuyo electrodo más cercano se clasificó como descartable. En el criterio extendido se ignoraron los rotores calculados en posiciones de electrodos descartables y además, los encontrados en los electrodos contiguos (superior, inferior y laterales) a éstos.

2.5. Sensibilidad y especificidad

La sensibilidad del modelo de detección de cada aurícula se obtuvo a partir del número de rotores de FIRM en cuya región extendida al menos un electrodo coincidió con la localización de los rotores calculados por el método 3D, respecto al número total de rotores de FIRM en dicha aurícula. La especificidad se calculó a partir del número de electrodos no correspondientes a las regiones extendidas de rotores de FIRM que no fueron identificados mediante el método 3D de fase, respecto al número total de electrodos fuera de regiones de rotores de FIRM. Las curvas ROC de los modelos de detección se obtuvieron escogiendo como umbral de discriminación el tiempo mínimo de duración de los rotores detectados.

3. Resultados

3.1. Identificación de rotores mediante fase 3D

Tal y como se puede observar en la Figura 1, la posición de la reentrada eléctrica detectada con el método 2D FIRM (Fig. 1B) se puede identificar también en el mapa de fase 3D obtenido mediante la posición real de los electrodos (Fig. 1C). En general, esta identificación es dependiente del umbral temporal utilizado para la detección de rotores en el mapa 3D de fase, ya que estos son más intermitentes: su tiempo medio de duración es de 279.50 ± 185.7 ms, mientras que en 2D permanecen por decenas de segundos.

3.2. Descarte con revisión manual

La eliminación de rotores detectados en regiones de la aurícula con EGMs registrados con alta cantidad de ruido demostró una mejora significativa en el modelo de

detección de rotores en la aurícula. Como se puede observar en el ejemplo de la Figura 2, donde se representa el histograma de rotores para el caso de la Figura 1, la calidad del EGM varía de las zonas coincidentes con rotores FIRM (Fig. 2B) de las no coincidentes (Fig. 2C).

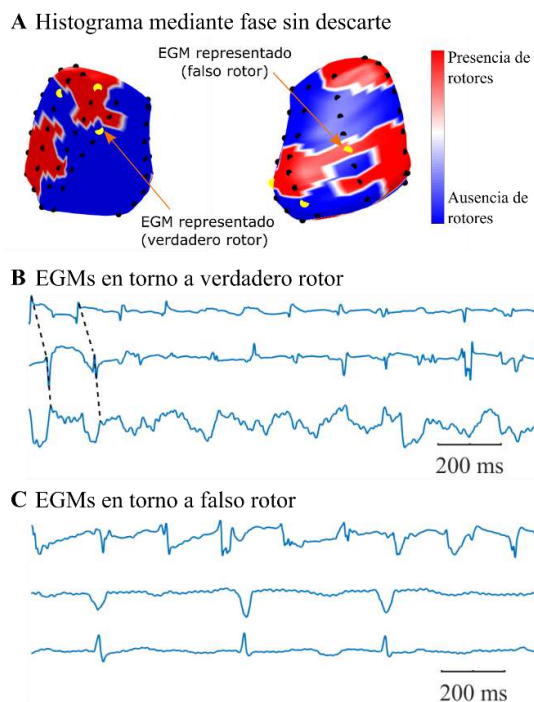


Figura 2. Ejemplo del rotor detectado en la Figura 1. **A.** Histograma mediante método 3D de fase. **B.** EGMs marcados en A (puntos amarillos, izquierda) en torno al verdadero rotor. **C.** EGMs marcados en A (puntos amarillos, derecha) en torno al falso rotor. Se observa que algunas de las señales presentan mucho ruido ventricular.

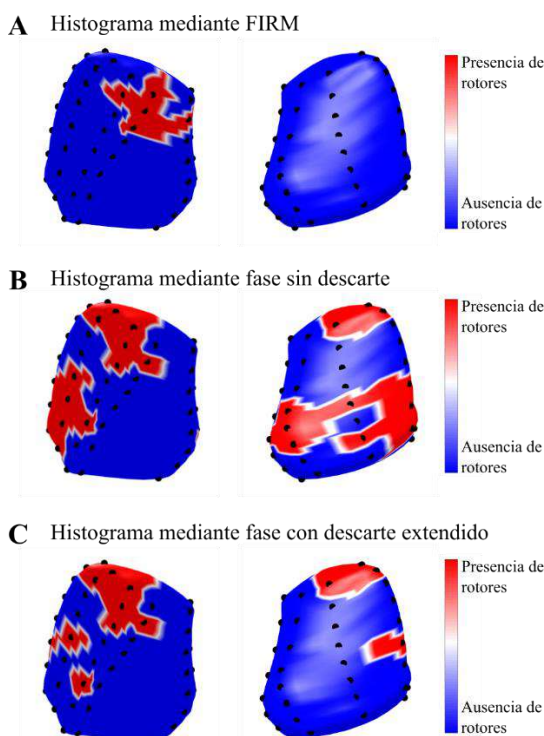


Figura 3. Ejemplo de histogramas. **A.** Rotores detectados por FIRM. **B.** Rotores calculados sin descartar ningún electrodo. **C.** Rotores calculados siguiendo el criterio de descarte extendido.

El descarte de las señales ruidosas incrementó significativamente la especificidad del modelo de detección. En el ejemplo de la Figura 3C se aprecia la mejora cualitativa en la detección de rotores del modelo con descarte de EGMs con criterio extendido, frente al modelo sin ningún criterio de selección. Se puede observar que numerosos falsos positivos fueron detectados en este tipo de regiones, por lo que su eliminación permitió obtener una mejor precisión en la identificación del rotor detectado por el método 2D (FIRM).

La mejora de la especificidad del modelo de detección que se obtuvo al aplicar este criterio no se produjo a expensas de una significativa reducción en su sensibilidad. Como se puede observar en la Figura 4, el área bajo la curva ROC (AUC) del modelo sin descarte de rotores fue de 0.69, con sensibilidad máxima de 0.93 y especificidad de 0.28, valor que ascendió a 0.74 al descartar los rotores según el criterio estricto, manteniendo la sensibilidad máxima, pero aumentando su especificidad a 0.42. Aplicando el criterio de descarte extendido el AUC aumentó hasta 0.80, con una sensibilidad máxima de 0.92 y especificidad de 0.62.

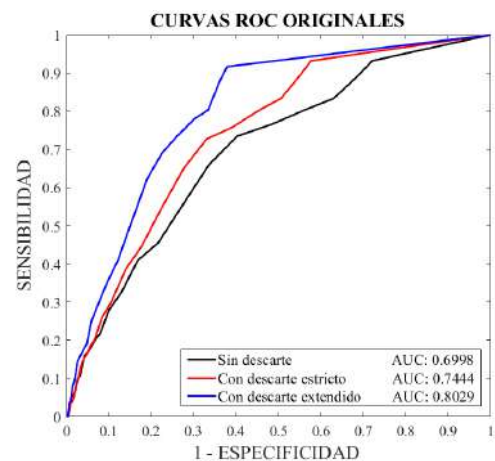


Figura 4. Curva ROC de los modelos de detección a partir de los EGMs revisados y anotados manualmente.

3.3. Algoritmo clasificador

De los modelos de clasificación probados, aquel que demostró mejores resultados es el basado en árboles de decisión con *Bagging* y *Random Forest*. El clasificador obtenido ofreció una sensibilidad de 0.91 y una especificidad del 0.85 respecto al conjunto total de 8266 EGMs de la base de datos usada. Además, el algoritmo ofreció un AUC de 0.94, por lo que presenta un buen comportamiento en caso de ajuste a diferentes niveles de especificidad en la clasificación de señales. De los 32 parámetros por señal empleados para entrenar al clasificador, aquellos relacionados con su contenido espectral poseyeron una importancia estimada mayor, en concreto: la DEP por debajo de 3 Hz y las DFs de la señal cruda y preprocesada con paso banda de 2 a 20 Hz.

3.4. Descarte con revisión automática

La revisión automática de EGMs por el clasificador causó que un pequeño número de señales fuesen clasificadas de forma incorrecta. Un número significativo de EGMs fueron clasificados como descartables a pesar de ser

señales de alta calidad. Se comprobó que estos errores de tipo I producen un peor desempeño del modelo de detección de rotores debido al descenso de la sensibilidad que los errores de tipo II (señales ruidosas clasificadas como no descartables), por lo que se ajustó el clasificador para que en la revisión automática sólo se clasificasen como descartables aquellos cuya probabilidad de serlo según el algoritmo fuese 70% o superior. Este criterio permitió aumentar la especificidad del clasificador al 0.92 a costa de mantener su sensibilidad al 0.80.

Teniendo en cuenta las señales anotadas de forma automática, el método 3D de detección de rotores ofreció un desempeño similar al que presentó con señales anotadas manualmente. Como se aprecia en la Figura 5, aplicando el criterio estricto de descarte el AUC ascendió a 0.75, con sensibilidad máxima de 0.93 y especificidad de 0.45. Descartando los rotores por el criterio extendido el AUC resultó de 0.80 con una sensibilidad máxima de 0.84 y especificidad de 0.70.

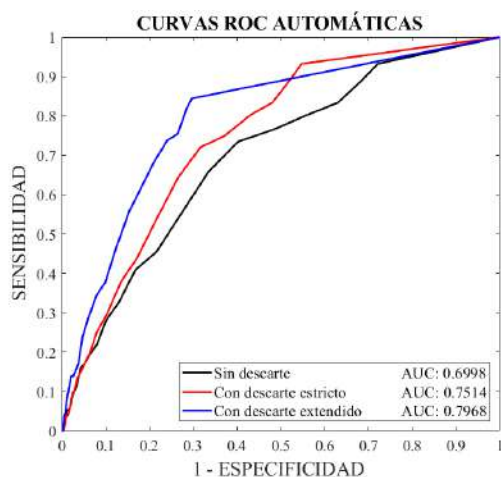


Figura 5. Curva ROC de los modelos de detección a partir de los EGMs revisados y anotados automáticamente por el clasificador.

4. Discusión

En este estudio se comprobó que el descarte de rotores detectados en regiones de la aurícula cuyos EGMs se registraron de forma inadecuada mejora la especificidad y sensibilidad de su detección mediante fase 3D, comparado con el método FIRM. El AUC de la curva ROC del modelo de detección se incrementó desde 0.69 sin descarte, a 0.80 con descarte con criterio extendido, desde una especificidad óptima de 0.28 a 0.62 respectivamente. Adicionalmente, se desarrolló un algoritmo clasificador de la calidad de los EGMs, que permitió realizar el descarte de manera automática manteniendo el valor de sensibilidad y especificidad prácticamente inalterados.

La mejora de la especificidad observada indica que la presencia de EGMs de baja calidad en la construcción del mapa de fases puede provocar la aparición de falsos rotores no deseados. Además, el buen desempeño del algoritmo clasificador demuestra que los EGMs de alta y baja calidad presentan diferencias significativas en ciertos parámetros, principalmente correspondientes al dominio espectral.

Estos resultados parecen concordar con las ideas propuestas por Vidmar et al. [6], si bien en el presente

estudio la calidad de los EGMs fue analizada manualmente por un observador, y el método de detección utilizado fue mapas de fase 3D en lugar de 2D. Además, se demostró que el análisis del dominio espectral de la señal y no sólo de sus características en el dominio de la amplitud pueden aportar información significativa en la identificación de EGMs de baja calidad.

La principal limitación del presente trabajo es el uso de la técnica FIRM como sustituto de *gold standard*. Esta técnica, si bien ha demostrado un mejor desempeño en el diseño de procedimientos de ablación que técnicas convencionales, no presenta una eficacia absoluta [7], y resta el análisis conjunto con otras técnicas consideradas *gold standard* (como *optical mapping*) para validar dicha detección en regiones dominantes durante FA.

5. Conclusiones

El uso de la calidad del EGM registrado para descarte de los rotores detectados en zonas ruidosas ha permitido aumentar significativamente el desempeño del sistema de detección. Además, la identificación de dichas señales ruidosas se ha demostrado posible mediante algoritmos de clasificación automática, basados en características temporales y espectrales de la señal. Por ello, el descarte automático de rotores en regiones con registros de baja calidad permitirá la mejor identificación de regiones de la aurícula causantes del mantenimiento de la FA, y por lo tanto una mejora en los procedimientos de ablación.

6. Referencias

- [1] Narayan SM, Krummen DE, Clopton P, et al. Direct or coincidental elimination of stable rotor or focal sources may explain successful atrial fibrillation ablation: on-treatment analysis of the CONFIRM trial. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:138-147.
- [2] Hansen BJ, Zhao J, Csepe TA, et al. Atrial fibrillation driven by micro-anatomic intramural re-entry revealed by simultaneous sub-epicardial and sub-endocardial optical mapping in explanted human hearts. *Eur Heart J*. 2015;36:2390-401.
- [3] Vijayakumar R, Vasireddi SK, Cuculich PS, et al. Methodology considerations in phase mapping of human cardiac arrhythmias. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2016;9:e004409.
- [4] Rodrigo M, Climent AM, Liberos A, et al. Highest dominant frequency and rotor positions are robust markers of driver location during noninvasive mapping of atrial fibrillation: A computational study. *Heart Rhythm*. 2017;14:1224-1233.
- [5] Kuklik P, Zeemering S, van Hunnik A, et al. Identification of rotors during human atrial fibrillation using contact mapping and phase singularity detection. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2017;64:310-318.
- [6] Vidmar D, Alhousseini MI, Narayan SM, et al. Characterizing Electrogram Signal Fidelity and the Effects of Signal Contamination on Mapping Human Persistent AF. *Front Physiol*. 2018;9:1232.
- [7] Zaman AB, Schricker A, Lalani G, et al. Focal Impulse And Rotor Mapping (FIRM): Conceptualizing And Treating Atrial Fibrillation. *J Atr Fibrillation*. 2014;7:1003.

Sistemas

Miércoles, 21 de noviembre

Influencia de la corriente de estimulación en las diferencias entre simulaciones electrofisiológicas de célula y tejido

V. Monasterio¹, E. Pueyo^{2,3}, J. F. Rodríguez-Matas⁴, J. Carro¹

¹ Universidad San Jorge, Villanueva de Gállego, España {vmonasterio, jcarro}@usj.es

² Aragón Institute for Engineering Research, University of Zaragoza, IIS Aragón, Spain, epueyo@unizar.es

³ CIBER in Bioengineering, Biomaterials & Nanomedicine (CIBER-BBN), Spain, epueyo@unizar.es

⁴ LaBS, Department of Chemistry, Materials and Chemical Engineering “Giulio Natta”, Politecnico di Milano, Italy, josefelix.rodriuezmatas@polimi.it

Resumen

En este trabajo se presenta un estudio de simulación donde se comparan diferentes alternativas para la estimulación de modelos electrofisiológicos cardíacos en simulaciones de célula aislada, y se evalúan las diferencias entre los marcadores obtenidos y los obtenidos en simulaciones de tejido. En la comparación se incluyen las opciones utilizadas en la literatura, estimulación monofásica y bifásica cuadradas, y se propone una nueva forma de onda ajustada que imita la corriente extracelular presente en tejido. Los resultados muestran que la simulación ajustada produce los marcadores más cercanos a los obtenidos en simulaciones de tejido.

1. Introducción

Los modelos matemáticos de la actividad del corazón son una herramienta muy valiosa para mejorar nuestro conocimiento sobre la fisiología cardíaca. En particular, los modelos que describen la actividad eléctrica de los miocitos cardíacos ayudan a entender el funcionamiento de estas células en condiciones normales o durante alteraciones provocadas por enfermedades o por la acción de medicamentos.

Los modelos electrofisiológicos tratan de representar y predecir los resultados de experimentos *in vitro* o *in vivo*. Los resultados de dichos experimentos muestran un alto grado de variabilidad fisiológica, mientras que la mayoría de modelos actuales solo representan un potencial de acción (*action potential*, AP) promedio. Es por esto que, en lugar de utilizar un solo modelo, actualmente se tiende a crear conjuntos de modelos con diferentes parámetros, de manera que la población de modelos resultante sea capaz de representar la variabilidad encontrada en los experimentos [1].

Para generar una población de modelos, primero se seleccionan los parámetros a modificar y sus rangos de variación. Posteriormente, se realiza la calibración de la población, es decir, se simulan los modelos candidatos y se comparan con medidas experimentales, descartándose aquellos modelos cuyos resultados no concuerden con los datos experimentales de referencia. Un aspecto crítico en la calibración es el realismo de las simulaciones, que deben imitar lo mejor posible las condiciones experimentales y los protocolos seguidos para obtener los

datos de referencia (frecuencia y tipo de estimulación, concentraciones iónicas extracelulares, etc.) [1].

En el proceso de calibración se utilizan marcadores electrofisiológicos tales como la duración del AP, el máximo potencial de membrana, la triangulación y otros. Debido a la sensibilidad de algunos canales al proceso de aislado de las células, estos marcadores de referencia se suelen obtener a partir de experimentos con fragmentos de tejido cardíaco. En esos casos se evita la destrucción de canales que pueda afectar a las mediciones, pero el valor de algunos marcadores puede estar fuertemente influenciado por la conducción entre células. Sin embargo, los efectos derivados de la conducción no se suelen tener en cuenta durante el proceso de calibración, lo que puede constituir una fuente de error a la hora de comparar los resultados simulados y experimentales. Como ya se ha apuntado en la literatura [2], algunos marcadores no tienen una buena correspondencia entre célula aislada y tejido, y deben ser usados con precaución a la hora de desarrollar modelos o de calibrar poblaciones.

Por tanto, para utilizar como referencia los marcadores con peor correspondencia entre célula y tejido, como la triangulación o la pendiente máxima de la fase 0 del AP [2], lo deseable sería realizar las simulaciones con la población de modelos en tejido, utilizando por ejemplo un modelo sencillo de cable que incluya los efectos de la conducción. Lamentablemente esta opción supondría un coste computacional excesivamente elevado para la mayoría de los estudios. Una alternativa más plausible consistiría en incluir dentro de lo posible los efectos de la conducción en las simulaciones de célula aislada. En la literatura existen trabajos que proponen [3] y aplican [4] una estimulación bifásica en simulaciones de célula aislada para tener en cuenta el efecto de conducción electrotónica presente en tejido. En estos trabajos, sin embargo, no se trata explícitamente el problema de la coherencia entre los marcadores calculados en célula y en fibra.

En el presente trabajo presentamos un estudio de simulación donde comparamos diferentes alternativas para la corriente de estimulación, incluyendo opciones habituales en la literatura (estimulación monofásica, bifásica asimétrica y bifásica simétrica) y proponiendo una nueva forma de onda que imite la corriente extracelular obtenida a partir de una simulación en fibra, y

evaluamos su influencia en la correspondencia de los marcadores resultantes entre célula y tejido.

2. Métodos

2.1. Simulaciones computacionales

Se realizaron simulaciones en célula aislada y en tejido utilizando el modelo ventricular humano de ten Tusscher-Panfilov (TP06) [5] y el software de simulación ELVIRA [6].

Para simular la actividad eléctrica en tejido se creó una fibra homogénea de 3 cm de longitud compuesta de células de epicardio. La propagación eléctrica a lo largo de la fibra se modeló utilizando una ecuación de reacción-difusión monodominio. Se fijó el valor del coeficiente de difusión para obtener una velocidad de conducción de 65 cm/s [7]. La resolución numérica se realizó con un paso temporal de 0.01 ms y un paso espacial de 0.1 mm. Para estimular la fibra se aplicaron pulsos monofásicos de corriente con una amplitud del doble del umbral de estimulación, definido como la mínima amplitud capaz de propagar cinco AP seguidos. Inicialmente, la fibra se estimuló durante 100 ciclos a una frecuencia de 1 Hz (*simulación de control*) y se midió el potencial de membrana en la posición central de la fibra.

Para simular la actividad eléctrica en célula aislada se utilizó el método de integración de *Forward-Euler* con un paso temporal de 0.01 ms. Se estudiaron cuatro alternativas para la forma de onda de la corriente de estimulación. Para las tres primeras alternativas se definió el umbral de estimulación como la mínima amplitud capaz de generar cinco APs seguidos. Las alternativas estudiadas fueron:

- Pulso monofásico de 1 ms de anchura y con una amplitud del doble del umbral de estimulación (*estimulación M*).
- Pulso bifásico asimétrico, definido como en [3]:

$$I_{estim}^{BA}(t) = \begin{cases} A & 0 \leq t \leq \Delta t \\ -A\Delta t / (T - \Delta t) & \Delta t < t < T \end{cases}$$

con una anchura $\Delta t = 1$ ms, una amplitud A del doble del umbral de estimulación, y una longitud de ciclo de estimulación T (*estimulación BA*).

- Pulso bifásico simétrico, definido como:

$$I_{estim}^{BS}(t) = \begin{cases} A & 0 \leq t \leq \Delta t \\ -A & \Delta t < t \leq 2\Delta t \end{cases}$$

con una anchura $\Delta t = 1$ ms y una amplitud A del doble del umbral de estimulación (*estimulación BS*).

- Onda bifásica ajustada simétrica (*estimulación A*), definida como:

$$I_{estim}^A(t) = \begin{cases} A \frac{\beta}{\alpha} \left(\frac{\gamma-t}{\alpha}\right)^{\beta-1} e^{-\left(\frac{\gamma-t}{\alpha}\right)^\beta} & \gamma - \Delta t < t \leq \gamma \\ -A \frac{\beta}{\alpha} \left(\frac{t-\gamma}{\alpha}\right)^{\beta-1} e^{-\left(\frac{t-\gamma}{\alpha}\right)^\beta} & \gamma < t \leq \gamma + \Delta t \end{cases}$$

donde $\alpha = 0.27$, $\beta = 1.31$ y $\gamma = 0.9$ son los parámetros de escala, forma y posición de una distribución

Weibull invertida y desplazada en el tiempo. Los valores de estos parámetros se obtuvieron mediante el ajuste por mínimos cuadrados de la parte positiva del pulso a la parte positiva de la corriente axial obtenida en fibra durante la simulación de control (Figura 1). La anchura total del pulso ($2\Delta t$) se fijó en 3 ms.

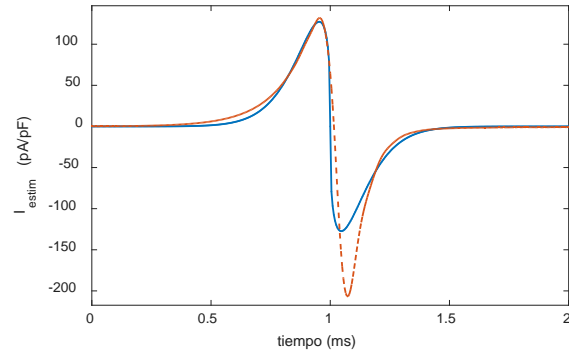


Figura 1. Superposición de la corriente axial obtenida en fibra durante la simulación de control (traza discontinua) y la forma de onda ajustada para la estimulación de célula aislada I_{estim}^A (traza continua).

2.2. Cálculo de marcadores

A partir de la simulación de control en fibra se calcularon los marcadores electrofisiológicos propuestos en [2] (Tabla 1). Posteriormente, se realizaron simulaciones de célula aislada con los cuatro tipos de estimulación. En todos los casos se aplicaron 100 ciclos de estimulación a 1 Hz y se calcularon los marcadores electrofisiológicos sobre la traza del último AP generado.

Para comparar los marcadores se calculó la diferencia relativa entre cada marcador j obtenido en célula aislada

$$(M_j^c) \text{ y en fibra } (M_j^f) \text{ como } E(\%) = \frac{M_j^c - M_j^f}{M_j^f} \cdot 100.$$

Marcadores	
APD ₉₀ (ms)	Duración del AP al 90% de repolarización
APD ₇₅ (ms)	Duración del AP al 75% de repolarización
APD ₅₀ (ms)	Duración del AP al 50% de repolarización
APD ₂₅ (ms)	Duración del AP al 25% de repolarización
Trian. (ms)	Triangulación = APD ₉₀ - APD ₅₀
V _{max} (mV)	Potencial de membrana máximo
V _{min} (mV)	Potencial de membrana de reposo
$\frac{dV}{dt}_{max}$ (V/s)	Pendiente máxima del AP
$\frac{dV}{dt}_{min}$ (V/s)	Pendiente mínima del AP

Tabla 1. Marcadores electrofisiológicos

2.3. Respuesta a la frecuencia de estimulación

Por último se realizaron simulaciones de célula aislada variando la frecuencia de estimulación entre 1 y 4 Hz en

pasos de 0.1 Hz. Para cada frecuencia y cada tipo de estimulación, la célula se estimuló durante 5 min y se calcularon el APD₉₀ y las concentraciones de Na y K intracelular, tal y como se propone en [3]. Además se realizaron simulaciones en fibra de 5 min de duración con frecuencias de estimulación entre 3 y 4 Hz, para comparar el comportamiento del modelo en célula y en fibra en el extremo de las condiciones simuladas.

3. Resultados

Los marcadores electrofisiológicos obtenidos para célula aislada y fibra se muestran en la Tabla 2. Las diferencias relativas entre célula y fibra se muestran en la Tabla 3.

Estimulación	M	BA	BS	A	Fibra
APD ₉₀ (ms)	300.6	295.7	300.1	300.2	300.2
APD ₇₅ (ms)	292.3	287.5	291.4	292.4	292.4
APD ₅₀ (ms)	273.0	268.5	270.2	276.7	276.9
APD ₂₅ (ms)	215.7	211.3	241.2	240.8	242.0
Trian. (ms)	27.6	27.2	29.9	23.5	23.3
V _{max} (mV)	37.3	37.6	42.4	25.2	24.6
V _{min} (mV)	-85.4	-85.6	-85.4	-85.4	-85.4
$\frac{dV}{dt}_{max}$ (V/s)	358.2	361.5	359.9	250.3	216.2
$\frac{dV}{dt}_{min}$ (V/s)	-8.8	-9.0	-65.0	-3.6	-3.3

Tabla 2. Marcadores electrofisiológicos simulados en célula aislada utilizando estimulación monofásica (M), bifásica asimétrica (BA), bifásica simétrica (BS), ajustada (A), y marcadores simulados en fibra

Estimulación	M	BA	BS	A
APD ₉₀ (ms)	0.1	-1.5	0.0	0.0
APD ₇₅ (ms)	0.0	-1.7	-0.3	0.0
APD ₅₀ (ms)	-1.4	-3.1	-2.4	-0.1
APD ₂₅ (ms)	-10.9	-12.7	-0.3	-0.5
Trian. (ms)	18.6	16.8	28.4	0.9
V _{max} (mV)	51.7	52.6	72.4	2.4
V _{min} (mV)	0.0	0.3	0.0	0.0
$\frac{dV}{dt}_{max}$ (V/s)	65.7	67.2	66.5	15.8
$\frac{dV}{dt}_{min}$ (V/s)	168.8	173.9	1883.7	10.6

Tabla 3. Diferencias relativas E(%) entre los marcadores calculados en célula aislada y los marcadores obtenidos en fibra

La estimulación ajustada (A) produjo las menores diferencias relativas en todos los marcadores excepto en

el APD₂₅. La mayor reducción de las diferencias célula-fibra respecto a la estimulación monofásica (M) se obtuvo para la estimulación ajustada (A) en los marcadores Triangulación, V_{max}, $\frac{dV}{dt}_{max}$ y $\frac{dV}{dt}_{min}$.

La Figura 2 muestra la variación de los marcadores en función de la frecuencia de estimulación para las simulaciones de célula aislada. Para cada tipo de simulación la traza se interrumpe en el punto en el que el intervalo entre estímulos se iguala con el periodo refractario de la célula; a partir de ese punto no todos los estímulos fueron capaces de generar nuevos APs. En las simulaciones de fibra, este punto se alcanzó con una estimulación a 3.5 Hz.

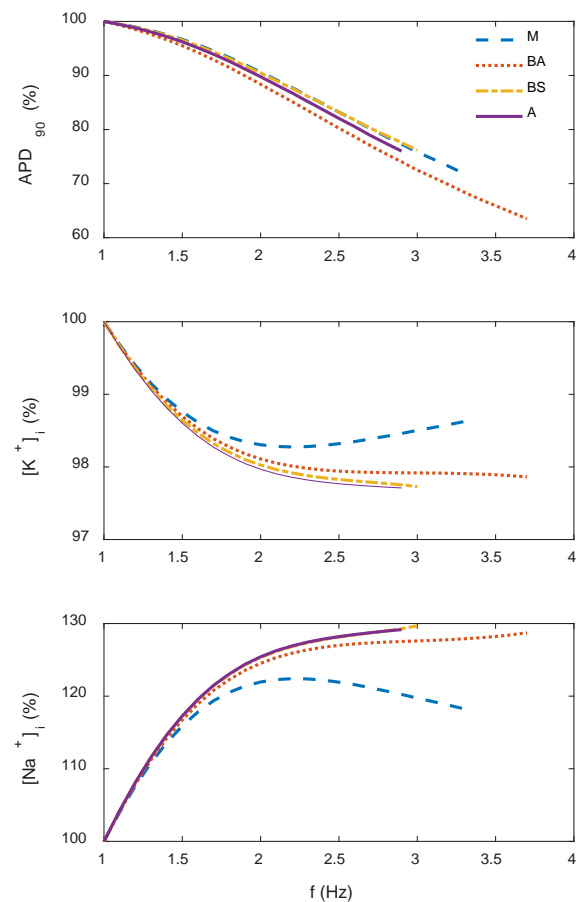


Figura 2. Variación de APD₉₀, [K⁺]_i y [Na⁺]_i en función de la frecuencia de estimulación para las diferentes formas de onda. Los valores se muestran normalizados con respecto al valor inicial (f = 1 Hz).

4. Discusión y conclusiones

En este trabajo hemos propuesto un nuevo modelo de estimulación para simulaciones de célula aislada, basado en el ajuste de la forma del pulso de estimulación a partir de la estimación de la corriente axial obtenida en simulaciones de fibra. La forma de onda ajustada es consistente con medidas experimentales [8] y reproduce el comportamiento de carga-descarga electrofisiológica presente en tejido cardíaco. Según los resultados obtenidos, los marcadores más afectados por el tipo de

estimulación fueron los relacionados con la depolarización (V_{\max} , $\frac{dV}{dt}_{\max}$ y $\frac{dV}{dt}_{\min}$). Entre los marcadores relacionados con la repolarización, el más afectado fue la triangulación. El uso de la corriente de estimulación ajustada en lugar del pulso monofásico habitual produjo los resultados de simulación en célula aislada más parecidos a los resultados de simulaciones en fibra para los marcadores analizados. Es por lo tanto una alternativa conveniente a la hora de utilizar datos experimentales obtenidos de tejido para calibrar poblaciones de modelos, sobre todo en aquellos casos en que se utilicen marcadores como la triangulación, V_{\max} , y $\frac{dV}{dt}_{\max}$.

Además de mejorar la correspondencia célula-tejido, el uso de la estimulación ajustada también puede simplificar el diseño del proceso de calibración. En [9] se estudió la corriente de estimulación como fuente de variabilidad extrínseca en la generación de APs, y se encontró que la amplitud del estímulo era un factor determinante en la variabilidad de la repolarización temprana. El uso de la estimulación ajustada a partir de simulaciones de fibra elimina la necesidad de determinar la amplitud de la corriente de estimulación de manera aislada. La amplitud de la estimulación ajustada no depende de la posición de la fibra donde se mida la corriente axial para el ajuste, siempre que se eviten los extremos de la fibra para minimizar los efectos de borde, y tampoco depende de la intensidad de la estimulación inicial del modelo de fibra. Sí que existe una dependencia de la anchura del pulso ajustado con el coeficiente de difusión utilizado en la simulación, y con la forma básica del AP generada por el modelo TP06. En este trabajo se ha optado por establecer un coeficiente de difusión que resultara en una velocidad de conducción fisiológica, pero este valor puede no resultar realista en simulaciones de tejido en condiciones patológicas. Asimismo, el valor de los parámetros α , β y γ debería ser recalculado para simulaciones basadas en modelos diferentes al TP06.

En cuanto al comportamiento frecuencial, los resultados son coherentes con la literatura [3]. En el modelo TP06 la corriente de estimulación se modela como una corriente de iones K^+ . Los resultados de la Figura 2 muestran que los efectos de la acumulación de carga positiva en el interior de la célula causada por la estimulación monofásica son mínimos para frecuencias de estimulación bajas. Por el contrario, para frecuencias de estimulación a partir de 2 Hz, la acumulación de $[K^+]_i$ producida por la estimulación monofásica empieza a ser evidente, y afecta a su vez a la concentración $[K^+]_o$, lo que puede producir cambios en la forma del AP. Para paliar este efecto, en [3] se propuso utilizar la estimulación BA. Nuestros resultados muestran que la estimulación ajustada propuesta en el presente estudio también presenta un comportamiento adecuado, evitando la sobreestimación de $[Na^+]_i$ en simulaciones de célula aislada al tratarse de una forma de onda con carga nula a lo largo del periodo de estimulación. Una limitación de nuestro estudio, sin embargo, consiste en que se ha utilizado una misma forma de onda para todas las frecuencias de estimulación, mientras que los resultados experimentales muestran que

la forma de onda de la corriente extracelular depende en cierta medida de la frecuencia de estimulación [3].

A pesar de las limitaciones, la estimulación ajustada propuesta en este estudio constituye una alternativa conveniente a la estimulación monofásica habitual para simulaciones de célula, ya que produce unos resultados más parecidos a los resultados de simulaciones de tejido sin tener que asumir el coste computacional que supondría calibrar una población de modelos en tejido en lugar de en célula.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos DPI2016-75458-R (MINECO) y MULTITOOLES2HEART-ISCIII, por el Fondo Social Europeo (EU) y el Gobierno de Aragón a través del grupo BSICoS (T39_17R), y por el European Research Council (ERC) a través del proyecto ERC-2014-StG 638284.

Referencias

- [1] A. Muszkiewicz, O. J. Britton, P. Gemmel et al., "Variability in cardiac electrophysiology: Using experimentally-calibrated populations of models to move beyond the single virtual physiological human paradigm," *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 120, no. 1–3, pp. 115–127, 2016.
- [2] J. Carro, J. F. Rodríguez-Matas, V. Monasterio, and E. Pueyo, "Limitations in electrophysiological model development and validation caused by differences between simulations and experimental protocols," *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 129, pp. 53–64, 2017.
- [3] L. Livshitz and Y. Rudy, "Uniqueness and stability of action potential models during rest, pacing, and conduction using problem-solving environment," *Biophys. J.*, vol. 97, no. 5, pp. 1265–1276, 2009.
- [4] O. J. Britton, A. Bueno-Orovio, L. Virag, A. Varro, and B. Rodriguez, "Effect of inter-subject variability in determining response to IKr block in human ventricular myocytes," *Comput. Cardiol. 2014*, pp. 869–872, 2014.
- [5] K. H. W. J. ten Tusscher and a V Panfilov, "Alternans and spiral breakup in a human ventricular tissue model.," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol. 291, no. 3, pp. H1088–H1100, 2006.
- [6] E. a. Heidenreich, J. M. Ferrero, M. Doblaré, and J. F. Rodríguez, "Adaptive macro finite elements for the numerical solution of monodomain equations in cardiac electrophysiology," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 38, no. 7, pp. 2331–2345, 2010.
- [7] P. Taggart, P. M. Sutton, T. Opthof, R. Coronel, R. Trimlett, W. Pugsley, and P. Kallis, "Inhomogeneous transmural conduction during early ischaemia in patients with coronary artery disease.," *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 32, no. 4, pp. 621–30, Apr. 2000.
- [8] N. Klauke, G. L. Smith, and J. Cooper, "Extracellular recordings of field potentials from single cardiomyocytes," *Biophys. J.*, vol. 91, no. 7, pp. 2543–2551, 2006.
- [9] A. Muszkiewicz, A. Bueno-Orovio, X. Liu, B. Casadei, and B. Rodriguez, "Constructing Human Atrial Electrophysiological Models Mimicking a Patient-Specific Cell Group," *Comput. Cardiol. (2010)*, vol. 41, pp. 761–764, 2014.

Comparison study of boundary conditions in the computational simulation of an ureteral peristalsis bolus

E. Mancha Sánchez¹, J.C. Gómez Blanco¹, J.E. de la Cruz Conty¹, F.M. Sánchez Margallo¹, J.B. Pagador Carrasco¹, F Soria Gálvez¹

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, Spain,
{emancha, jcgomez, jecruz, msanchez, jpagador, fsoria}@ccmijesususon.com

Abstract

Current computational models of ureter are not usually based on physiological behaviour of anatomical structures. For this reason, we propose a new simplified model of ureteral flow to simulate a peristalsis bolus on the distal section of the ureter. This model uses a closed ureter that generates the urinary bolus with an expansive force applied in its wall. To analyse this, a computational FSI simulation is proposed to recreate the peristalsis movement of the ureter in its distal section. These preliminary results will be improved in future works to build a more complex model and to analyse the effects in the urine flow of a new design of a half-length ureteral stent.

1. Introduction

Urine flows from the renal pelvis to the urinary bladder in healthy people through the ureter for two reasons: a physiological activity (peristalsis) and a physical phenomenon (pressure gradient in an open system). Peristalsis consists in the transport of urine in isolated boluses along the ureter. The movement of each bolus is driven by a cell to cell contraction and expansion. This movement is assumed to be a wave that moves continuously along the ureter [1].

In urinary tract research, ureteral flow is one of the major topics to investigate. There are works that try to explain the ureter movement looking to their mechanical properties [2-3]. Other research pathway is performing computational simulations. These simulations can be divided into 1) flow in stented ureters and 2) peristalsis flow. Stented ureters have a completely different behaviour compared to non-stented ureters. These ureters have no peristalsis due to the loss of muscle tone and work under the same principle as a straight tube. Some examples of this research, such as Cummings [4], Siggers [5] or Gómez-Blanco [6], study the urine flow through a stented ureter performing 2D axisymmetrical or 3D CFD (Computational Fluids Dynamics) or FSI (Fluid-Structure Interaction) simulations. This work presents a new simplified computational model of the ureteral peristalsis that will be used in future complex simulations of a new stent design. This new stent design ends in the middle length of the ureter, so it allows the ureter to have a peristalsis movement in the distal part.

Peristalsis flow has still room for improvement in computational simulations due to the complexity of the model. Some works use CFD axisymmetric flow [7-8], while others consider FSI approaches [7, 9], but the reliability of the computational model really depends on the peristalsis wave definition. In this sense, there are some approaches to define the peristaltic wave: 1) contraction pressure distribution [8] applied in the ureter or 2) solid wall moving along the ureter [7, 10]. However, very few efforts have been focused on controlled displacement [9], or expansive forces in the ureter [11]. It is important to note that the physiological movement of a bolus in the ureter is an expansion of the lumen [12]. This means that the ureteral lumen is closed, and the ureter wall starts to expand when the renal pelvis reaches a certain pressure performing the urinary bolus.

Hence, the main objective of this work is to analyse and compare the flow in a peristaltic ureteral bolus with different inlet and outlet pressures via computational simulations. Also, the creation of the peristalsis bolus is going to be done by the application of an expansion volumetric force in the ureter wall.

2. Materials and methods

2.1. Model

Our simplified models of the ureter were designed and simulated in COMSOL Multiphysics through two axisymmetric 2D models. The distal section of the ureter (non-stented section of that future complex model) was modelled with 100 mm length, 3 mm wall width and 0.5 mm lumen. The first one (Model 1) has the inlet and outlet defined as an open boundary. On the other side, the second one (Model 2) has an inlet and outlet pressure of 3 mmHg and 2 mmHg respectively. After that, two FSI simulations were run.

For these simulations, urine was considered such as Newtonian, incompressible fluid and the flow was assumed as laminar. The density (993.3 kg/m³) and the dynamic viscosity (0.6913 cP) of urine were considered equal to those of water at 37 °C. The solid domain used in both models was not taken into account in the results due to the simulation protocol. The solid domain has been used

to generate a certain displacement in the fluid by the application of a volumetric force.

2.2. Governing equation

For the fluid domain, according to our Newtonian and incompressible urine, the incompressible Navier-Stokes continuity and momentum equations are given:

$$\rho \nabla \cdot \mathbf{u}_{fluid} = 0$$

$$\rho \frac{(\partial \mathbf{u}_{fluid})}{\partial t} + \rho (\mathbf{u}_{fluid} \cdot \nabla) \mathbf{u}_{fluid} = \nabla \cdot \left[-\rho \mathbf{I} + \mu (\nabla \mathbf{u}_{fluid} + (\mathbf{u}_{fluid})^T) \right] + \mathbf{F}$$

where \mathbf{F} is the external force applied on the fluid. In this simulation, the external force is generated by the deformation of the solid domain, interacting with the fluid domain due to the coupled physics of FSI.

For the solid domain, the equilibrium equation is given by:

$$\rho \frac{\partial^2 \mathbf{u}_{solid}}{\partial t^2} - \nabla \cdot \boldsymbol{\sigma} = \mathbf{F}_V$$

where $\boldsymbol{\sigma}$ is the Cauchy stress tensor, \mathbf{F}_V the body force and \mathbf{u}_{solid} the deformation of the solid. Cauchy stress tensor is calculated from the second Piola-Kirchhoff stress \mathbf{S} by:

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{J}^{-1} \mathbf{F} \mathbf{S} \mathbf{F}^T$$

where \mathbf{F} , the deformation gradient, can be expressed in terms of the gradient of displacement vector \mathbf{u}_{solid} as:

$$\mathbf{F} = (\mathbf{I} + \nabla \mathbf{u}_{solid})$$

where \mathbf{I} is the identity matrix and \mathbf{J} is the Jacobian of the deformation given by:

$$\mathbf{J} = \det(\mathbf{F})$$

the linear elastic material strain tensor $\boldsymbol{\epsilon}$ is written in terms of the displacement gradient:

$$\boldsymbol{\epsilon} = \frac{1}{2} [(\nabla \mathbf{u}_{solid})^T + \nabla \mathbf{u}_{solid} + (\mathbf{u}_{solid})^T \mathbf{u}_{solid}]$$

Hooke law relates the stress tensor, the strain tensor and temperature as it follows:

$$\mathbf{s} = \mathbf{s}_0 + \mathbf{c} : (\boldsymbol{\epsilon} - \boldsymbol{\epsilon}_0 - \boldsymbol{\epsilon}_{th})$$

Where \mathbf{c} is the 4th order elasticity tensor, $:$ stands for the double-dot tensor product, \mathbf{s}_0 and $\boldsymbol{\epsilon}_0$ are initial stresses and strains, $\boldsymbol{\epsilon}_{th} = \alpha(T - T_{ref})$ is the thermal strain and is the coefficient of thermal expansion

For the FSI physic it is used an arbitrary Lagrangian-Eulerian (ALE) method to solve solid and fluid domains [13]. The total force exerted on the solid boundary by the fluid is:

$$\mathbf{f}_r = \mathbf{n} \cdot [-p \mathbf{I} + \mu (\nabla \mathbf{u}_{fluid} + (\nabla \mathbf{u}_{fluid})^T)]$$

where, \mathbf{n} is the outward normal to the boundary. The volumetric force at the solid domain is given by:

$$\mathbf{F}_V = \rho \frac{\partial^2 \mathbf{u}_{solid}}{\partial t^2} - \nabla \cdot$$

where \mathbf{F}_V is the volumetric force, but it is calculated by:

$$\mathbf{F}_V = \frac{\mathbf{F}_{tot}}{V}$$

where \mathbf{F}_{tot} is the applied force and V the volume of the solid domain. A transformation of the force is necessary to couple spatial frame (Navier-Stokes equations) and material frame (Solid mechanics interface), this is done according to:

$$\mathbf{F} = \mathbf{f} \frac{dv}{dV}$$

where dv and dV are the mesh element scale factors for the spatial frame and the material frame. Also, velocity of the moving wall and fluid velocity has to be coupled:

$$\mathbf{u}_{fluid} = \mathbf{u}_w$$

where, the solid displacement change rate consists of the structural velocities:

$$\mathbf{u}_w = \frac{\partial \mathbf{u}_{solid}}{\partial t}$$

2.3. Domain

Fluid domain. Urine was the liquid used for the fluid domain and it was considered such as incompressible and Newtonian fluid (similar to water). Density was set as $\rho = 993.3 \text{ kg/m}^3$ and viscosity as $\mu = 0,6913 \text{ cP}$. For Model 1 inlet and outlet boundary conditions were set as open boundary condition, so fluid can enter and leave the domain freely. In this way, only the movement of the wall, produced by the peristaltic force applied, was the responsible of the impulsion of the fluid. On the other side, for Model 2 the inlet and outlet conditions applied were 3 mmHg and 2 mmHg of pressure, respectively.

Solid domain. In this model the ureter wall was set as linear elastic material, not as hyperelastic material as described in previous studies [14]. A volumetric force was applied in the ureter solid domain radial axis, r , as described in 11, being \mathbf{F}_{tot} :

$$\mathbf{F}_{tot} = \text{Amp} \cdot \left[\left[\sin \left(\frac{\pi}{8} + \pi \cdot \frac{z - Vt}{\text{Lam}} \right) \right] - \sin \left(\frac{\pi}{8} + \pi \cdot \frac{z - Vt}{\text{Lam}} \right) \right]$$

where Amp was the amplitude of the force applied, V the movement speed of the peristaltic bolus, Lam the wavelength and z was the longitudinal axis. These parameters were set-up to $9 \cdot 10^7 \text{ N}$ (Amp), 20 mm/s (V) and 30 mm (Lam).

2.4. Mesh

A 2D triangular and quadrilateral element mesh was created for both models. Quadrilateral elements were created for the boundary of fluid domain and it consists of 1626 elements. Triangular elements were in the remaining unmeshed geometry of both domains (15292 elements). It

shows a 0.8586 mean quality of elements with a 0.5027 of minimal quality of elements.

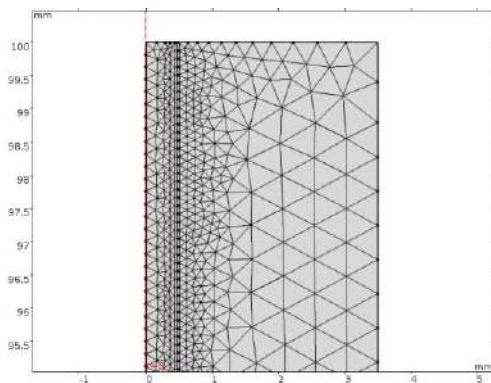


Figure 1. Mesh zoom of fluid and solid domains.

2.5. Simulation

Simulation was carried out with a time-dependent study, with a fully coupled solver. Simulation time was between 0 and 1.5 s with a time step of 10 ms. Solver used was a fully coupled solver that used MUMPS as a linear solver with a non-linear method with an automatic dumping factor.

3. Results and discussion

3.1. Movement

The movement of the fluid boundary in the 1.5 s simulation, obtained by the application of the volumetric force on the solid domain for both simulations, is shown in Figure 2. This wave represents the movement of the urinary bolus along the ureter. It can be seen that the maximum height reached for Model 1 is 1.8 mm and there is no displacement of the ureter between each bolus. On the other hand, for Model 2 the maximum height reached is 2 mm. It can be seen how the difference of pressure between inlet and outlet affects the height of the bolus' displacement. The waveform is simulated as a sinusoidal wave, as other researchers have done [9]. In our study the initial geometry needs a rectified sinusoidal to generate a correct peristalsis movement. It is clear that the peristalsis movement cannot be simulated only with a simple sinusoidal wave.

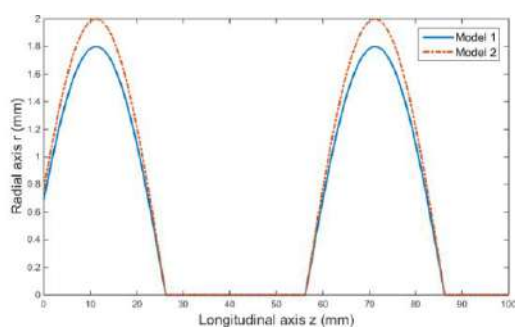


Figure 2. Radial displacement at simulation time of 1.5 s along the longitudinal axis for both models

3.2. Velocity

Velocity profiles of both simulations can be seen in Figure 3, this image shows two main facts occurring when the bolus moves. First, the velocity increases when the ureter expands to form the urinary bolus. Later, another increase of the velocity appears when the ureter comes back to its initial state. The expansion and the contraction of the ureter wall provoke a urine flow in the direction of the movement of the bolus. Maximum velocities are placed where the bolus starts and ends (4,5 cm/s). This allows obtaining a fluid flow along the ureter due to the movement of the bolus. For Model 2 similar values are reached. In this case urine flow is produced not only for the peristalsis movement but difference of pressure applied. These values correspond with previous works results [7, 10].

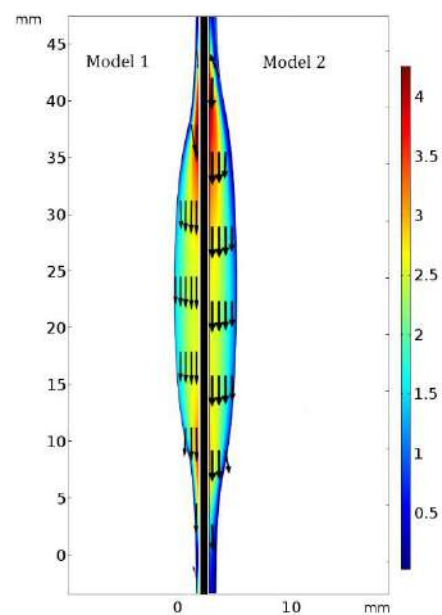


Figure 3. Representation of the velocity profile of both models.

3.3. Pressure

The distribution of pressure along the ureter is affected by the formation of the urinary bolus. Figure 4 shows the pressure distribution along the ureter for both models with the maximum and minimum pressures. In Model 1 the pressure obtained is relative to atmospheric pressure as it can be deduced from the negative values. The expansion of the ureteral wall provokes a pressure variation. This variation is big enough, compared to atmospheric pressure, to provoke a minimum vacuum (-10 Pa) that fill the ureteral bolus with urine. Maximum and minimum pressure values are located in the proximal and distal part of the bolus, respectively. Maximum pressure value (13.44 Pa over atmospheric pressure) is place where the bolus ends, maximum contraction zone. On the other side, minimum pressure value (24.44 Pa under atmospheric pressure) is located where the ureteral wall begins to expand forming the bolus. In Model 2 pressure distribution does not seem to be modified by the urinary bolus, showing maximum and minimum pressure on inlet and outlet of the ureter with

400 Pa (3 mmHg) and 266 Pa (2 mmHg) of pressure, respectively.

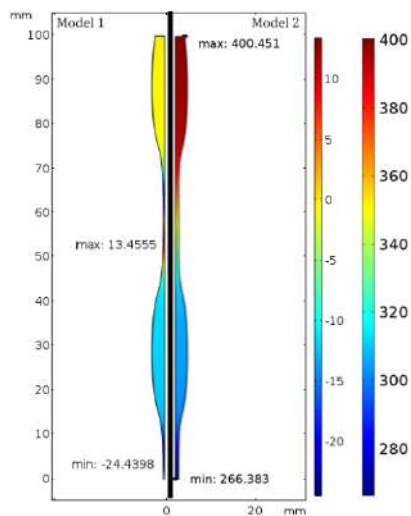


Figure 4. Representation of pressure distribution for both models

4. Conclusions

In this work two simulations of the peristaltic movement of the ureter was performed. The bolus was constructed from a closed ureter by the application of an expansive force obtaining a urinary bolus. The developed force model can generate a peristaltic movement more similar to the physiological one than previous in the literature. We have checked that peristaltic movement can generate a flow that does not depend on the pressure differences that exist along the ureter. Also, it seems that having or not inlet and outlet pressures in the ureter have not much influence in the formation of the bolus and in the velocities obtained. In this sense the velocity values in both models are within the physiological ranges obtained in previous works. However, there have been simulated only 1.5 s of peristalsis movement with a 0,3 s delay. So, our simulation time is not long enough to check how a bolus affects the next one, and how the flow can change.

Hence future simulations with finer meshes could facilitate a better resolution of the model. Also, redefined the force model with in vivo bolus geometries can generate a more precise peristaltic displacement. Finally, the addition of the stent model to the proximal zone of our model is necessary to evaluate the benefits of this new ureteral stent design. [8]

Acknowledgements

This work was supported by the Ministry of Economy and Competitiveness (Carlos III Institute of Health PI16/01707).

References

- [1] F. Osman et al., "A novel videomicroscopic technique for studying rat ureteral peristalsis in vivo," *World Journal of Urology*, vol. 27, no. 2, pp. 265–270, 2009.
- [2] F. C. Yin and Y. C. Fung, "Mechanical properties of isolated mammalian ureteral segments," *American Journal of Physiology – Legacy Content*, vol. 221, no. 5, pp. 1484–1493, 1971.
- [3] D. P. Sokolis, "Multiaxial mechanical behaviour of the passive ureteral wall: experimental study and mathematical characterisation," *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, vol. 15, no. 11, pp. 1145–1156, 2012.
- [4] L. J. Cummings et al., "The effect of ureteric stents on urine flow: Reflux," *Journal of Mathematical Biology*, vol. 49, no. 1, pp. 56–82, 2004.
- [5] J. H. Siggers et al., "Flow dynamics in a stented ureter," *Math Med Biol*, vol. 26, no. 1, pp. 1–24, 2009.
- [6] J. C. Gómez-Blanco et al., "Fluid Structural Analysis of Urine Flow in a Stented Ureter," *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. 2016, p. 7, 2016.
- [7] B. Vahidi and N. Fatourae, "A biomechanical simulation of ureteral flow during peristalsis using intraluminal morphometric data," *Journal of Theoretical Biology*, vol. 298, pp. 42–50, 2012.
- [8] J. Jiménez-Lozano, M. Sen, and E. Corona, "Analysis of peristaltic two-phase flow with application to ureteral biomechanics," *Acta Mechanica*, vol. 219, no. 1, pp. 91–109, 2011.
- [9] K. Yazdanpanh-Ardakani and H. Niroomand-Oscuii, "New approach in modeling peristaltic transport of non-Newtonian fluid," *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, vol. 13, no. 04, p. 1350052, 2013.
- [10] B. Vahidi et al., "A mathematical simulation of the ureter: effects of the model parameters on ureteral pressure/flow relations," *J Biomech Eng*, vol. 133, no. 3, p. 31004, 2011.
- [11] T. A. Tasnub, G. Prashanta, and C. A. J., "A fluid-structure interaction (FSI)-based numerical investigation of peristalsis in an obstructed human ureter," *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, vol. 0, no. 0, p. e3104, 2018.
- [12] J. Mortensen et al., "Renal Pelvis Pressure Flow Relationship in Pigs After Transections of the Ureter," *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, vol. 18, no. 4, pp. 329–333, 1984.
- [13] COMSOL Multiphysics, "Theory for the Fluid-Structure Interaction Multiphysics Interface - Structural Mechanics Module," Manual, p. 454, 2008.
- [14] A. Rassoli et al., "Biaxial mechanical properties of human ureter under tension," *Urol J*, vol. 11, no. 3, pp. 1678–1686, 2014.

Efecto del monóxido de carbono en la generación de rotores. Estudio de simulación

L.C. Palacio¹, J.P. Ugarte², J. Saiz³, C. Tobón¹

¹ MATBIOM, Universidad de Medellín, Medellín, Colombia, lcpt91@gmail.com, ctobon@udem.edu.co

² Facultad de Ingenierías, Universidad de San Buenaventura, Medellín, Colombia, juan.ugartem@upb.edu.co

³ CI²B, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, jsaiz@ci2b.upv.es

Resumen

La exposición a agentes contaminantes atmosféricos como el monóxido de carbono (CO), favorece la aparición de enfermedades cardiovasculares. Estudios han demostrado que el CO bloquea los canales de calcio, lo que lleva a una disminución de la corriente I_{CaL} y de la duración del potencial de acción (APD); favoreciendo la iniciación y mantenimiento de fibrilación auricular (FA). El objetivo de este trabajo es estudiar mediante simulación, los efectos del CO a diferentes concentraciones sobre la generación de rotores como mecanismo de mantenimiento de FA. Para lo cual se modificó un modelo matemático de célula de aurícula humana acoplado a un modelo 2D, bajo condiciones normales. Los resultados sugieren que el CO bloquea la corriente I_{CaL} en una fracción mayor a medida que aumenta su concentración, generando un acortamiento del APD, lo que favorece la generación de rotores a altas concentraciones de CO.

1. Introducción

La contaminación atmosférica es el principal componente de la contaminación ambiental y puede definirse como la presencia en la atmósfera de una o varias sustancias en cantidad suficiente para producir alteraciones de la salud. Provoca 4,3 millones de muertes prematuras al año [1]. Entre 2005 y 2010, la tasa de mortalidad aumentó en un 4% a nivel mundial [1]. En Europa, el costo estimado por daños causados (incluyendo problemas de salud) por la contaminación atmosférica, procedente de las 10.000 mayores instalaciones contaminantes en 2009, fue alrededor de USD \$140-230 billones de dólares [2]. El costo del impacto en la salud de la contaminación atmosférica para los países en desarrollo, fue alrededor de USD 1,7 billones de dólares en 2010 [1].

En particular, la contaminación del aire aumenta el riesgo de mortalidad por enfermedad cardiovascular en un 76% [3], las muertes están relacionadas con isquemia, arritmias e insuficiencia cardíaca (IC) principalmente [4-6]. Estudios recientes, han podido demostrar una mayor probabilidad de aparición de arritmias cardíacas, después de la exposición a agentes contaminantes atmosféricos, concluyendo que la contaminación del aire es un “disparador” agudo de estas arritmias [7].

Los contaminantes más peligrosos para la salud de acuerdo a la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), son: el dióxido de nitrógeno (NO₂), el material particulado (PM), el dióxido de azufre (SO₂), el monóxido de carbono (CO) y el plomo (Pb). El

CO es un gas venenoso incoloro e inodoro. Se produce cuando el oxígeno no es suficiente para realizar una combustión completa. La exposición al CO está relacionada con la aparición de enfermedades cardiovasculares [8]. Estudios epidemiológicos han mostrado que la exposición al CO está estrechamente relacionada con los ingresos hospitalarios por enfermedades cardiovasculares [9], así como con la mortalidad cardíaca [10]. La contaminación por CO aumenta los factores de riesgo en insuficiencia cardíaca, y la generación y mantenimiento de arritmias. Estudios experimentales [11, 12] han demostrado que el CO afecta la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}) en los cardiomiocitos y provoca una disminución importante de la duración del potencial de acción (APD). En general, una disminución del APD en las células auriculares favorece la generación y mantenimiento de arritmias auriculares como la fibrilación auricular (FA) [13]. La FA es la arritmia cardíaca más común en la práctica clínica, afecta entre el 1 y 2% de la población en general. Se estima que para el año 2050 cerca de 16 millones de personas padecerán FA [14]. La hipótesis del rotor sugiere que la FA es sostenida por circuitos de micro-reentrada que giran alrededor de un punto de singularidad llamados rotores [15].

El presente trabajo estudia los mecanismos por los cuales el CO afecta el potencial de acción auricular causando la generación de rotores en un modelo 2D.

2. Métodos

2.1. Modelo de célula de aurícula humana

Se implementó el formalismo de célula de aurícula humana de Courtemanche-Ramirez-Nattel-Kneller, validado en trabajos previos [16-20]. La siguiente ecuación permite calcular el potencial transmembrana (V_m):

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ion} + I_{st} = 0$$

Donde C_m es la capacidad de membrana (100 pF), I_{st} es la corriente de estimulación externa, e I_{ion} es la corriente iónica total. Se simuló una concentración de 0.005 μ M de acetilcolina.

2.2. Modelo del efecto del CO sobre la corriente I_{CaL}

Con base a estudios experimentales [11], se estableció una relación matemática entre la concentración de CO en solución stock y la disminución del APD. Los estudios

atribuyen esta disminución al bloqueo de la corriente I_{CaL} [12], por lo cual, se desarrolló una ecuación matemática para el factor de bloqueo de la corriente I_{CaL} (b_{CO}) por CO, dependiente de la concentración del CO (D_{CO}). Esta ecuación fue ajustada para obtener reducciones del APD aproximadamente igual a los observados experimentalmente [11]. La ecuación para el factor de bloqueo de I_{CaL} por CO es la siguiente:

$$b_{CO} = 0,0002D_{CO} + 0,0827$$

Por último, el factor de bloqueo se introduce en la ecuación de la corriente I_{CaL} :

$$I_{CaL} = (1 - b_{CO})g_{CaL}df_{Ca}(V_m - 65)$$

Implementamos el modelo unicelular para simular el potencial de acción auricular en el software CellML OpenCOR®. Se utilizó el método Forward Euler con un paso de tiempo de 0.001 ms para resolver las ecuaciones.

2.3. Modelo 2D de tejido

Se desarrolló un modelo 2D de tejido auricular humano, el cual consiste en una malla de 6 cm x 6 cm, compuesta por 192 x 192 elementos cuadrados, con una discretización espacial de 312.5 μ m.

2.4. Modelo de propagación eléctrica

La propagación del potencial de acción en el modelo 2D de tejido auricular, se describe por la siguiente ecuación de reacción-difusión, la cual corresponde al modelo monodominio de propagación eléctrica, validado en estudios previos [18, 20, 21]:

$$\frac{1}{S_v} \nabla \cdot (D \nabla V_m) = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion} + I_{st}$$

Donde S_v es la razón entre superficie/volumen y D es el tensor de conductividad. La ecuación fue resuelta usando un esquema semi-espectral [22] en un programa desarrollado en MATLAB®. El tejido fue considerado isotrópico, se asignó una conductividad de 0.4 S/cm para obtener una velocidad de conducción realista (62.5 cm/s).

2.5. Protocolo de estimulación

Se aplicó un tren de 10 pulsos rectangulares de 2 ms de duración y -2000 pA para generar potenciales de acción a una longitud de ciclo de 1000 ms. Para la generación de rotos, se aplicó el protocolo de estimulación cruzada S1-S2 en el modelo 2D (pulsos rectangulares de 2 ms de duración y 6 mA de amplitud). El estímulo S1 es plano y se aplica en el límite izquierdo del modelo. El estímulo S2 es rectangular (3 cm x 3 cm) y se aplica en la fase de repolarización de S1 en una esquina del modelo.

Se aplicaron concentraciones de CO (disuelto) desde 0 μ M hasta 1000 μ M. Se realizaron mediciones de la duración del potencial de acción al 90% de la repolarización (APD₉₀), del potencial de reposo de la membrana (RMP) y de las corrientes iónicas. La simulaciones fueron de 2 segundos.

3. Resultados

La Figura 1 muestra los efectos del CO a diferentes concentraciones sobre el potencial de acción auricular y la corriente de calcio I_{CaL} . Se puede observar que el pico máximo de la corriente I_{CaL} sin CO (concentración de CO de 0 μ M) es de -449 pA, la corriente permanece activa durante la fase de meseta del potencial de acción. Sin embargo, a medida que se incrementa la concentración de CO, se observa un descenso de la corriente I_{CaL} e inactivación progresiva durante la fase de meseta del potencial de acción, lo cual genera un acortamiento progresivo del APD₉₀ (Tabla 1) y pérdida de la fase de meseta.

Cuando se aplicó la más alta concentración de CO (1000 μ M), el pico de I_{CaL} disminuyó un 21% (-356 pA) y el APD₉₀ alcanzó un valor de 151 ms. El RMP no mostro cambios significativos (\approx -83 mV).

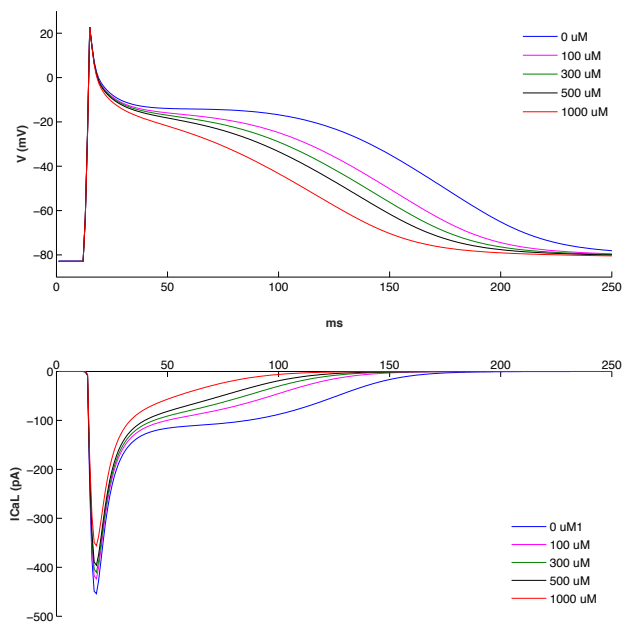


Figura 1. Potencial de acción y corriente I_{CaL} para diferentes concentraciones de CO.

La Tabla 1 muestra los valores de APD₉₀ decrecientes en función del incremento de la concentración de CO. Cuando se aplicó la concentración más alta de CO (1000 μ M) el APD₉₀ se redujo un 28%.

[CO]	APD ₉₀	% de reducción
0 μ M	211 ms	-
100 μ M	187 ms	11 %
300 μ M	177 ms	16 %
500 μ M	169 ms	20 %
1000 μ M	151 ms	28 %

Tabla 1. APD₉₀ a diferentes concentraciones de CO.

Al aplicar el protocolo de estimulación cruzada S1-S2 en el modelo 2D bajo concentraciones de CO de 0, 100, 300 y 500 μ M, no fue posible generar un rotor, el frente de

onda generado por S2 gira sobre sí mismo, sin embargo, choca con su propia cola refractaria (tejido inexcitable) y se extingue, ya que el periodo refractario es mayor que la trayectoria de giro.

Por otra parte, al aplicar la mayor concentración de CO (1000 μM), el frente de onda, al tener un menor periodo refractario, se encuentra con tejido excitable y continua girando sobre sí mismo, generando un rotor estable en el tejido (Figura 2).

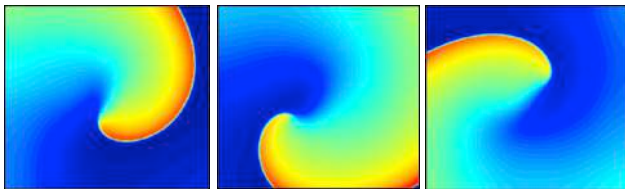


Figura 2. Rotor generado al aplicar 1000 μM de CO.

4. Discusión

La contaminación atmosférica está asociada con resultados cardiovasculares adversos y puede causar la muerte prematura. Sin embargo, los mecanismos subyacentes a estos efectos son poco conocidos. Estudios epidemiológicos asocian el CO atmosférico con afectaciones cardiovasculares y aumento del riesgo de mortalidad cardíaca, sugiriendo que el CO en particular, es uno de los principales contaminantes responsables del desarrollo de enfermedades cardiovasculares [23, 24]. A baja concentración, como se puede encontrar en el medio urbano, el CO se ha correlacionado con admisiones hospitalarias, mortalidad y morbilidad, relacionadas con disfunciones cardiovasculares [23, 25]. Sin embargo, hay una falta de información sobre los mecanismos celulares subyacentes. Recientemente, se ha demostrado que la exposición crónica al CO, promueve un fenotipo patológico de los cardiomiocitos, donde el remodelado y la afectación de la dinámica del calcio incrementarían el riesgo de arritmias [26, 27]. En un estudio [28] en corazones aislados de ratas expuestas durante 4 semanas a aire enriquecido con CO, observaron que la exposición prolongada al CO empeora las lesiones miocárdicas de isquemia-reperfusión, lo que resulta en una disminución de la función miocárdica y un aumento del tamaño del infarto. Los efectos agravantes podrían explicarse por una reducción del estado antioxidante enzimático miocárdico asociado al manejo intracelular de Ca^{2+} .

La capacidad del CO de alterar la actividad electrofisiológica en el corazón y en el sistema nervioso ha conducido a estudios de la capacidad del CO para regular los canales iónicos específicos [29]. Estos efectos pueden ocurrir ya sea como acciones directas del CO, o (y más comúnmente) efectos del CO en vías de señalización intracelular estrechamente relacionadas.

Un estudio del efecto del CO sobre la actividad eléctrica y contráctil en preparaciones aisladas de miocardio auricular y ventricular de rata [11] mostro que el CO causó una disminución prominente del APD en el miocardio auricular funcional, así como una aceleración significativa del ritmo sinusal. En las preparaciones de

miocardio ventricular, el CO exógeno también indujo un acortamiento del potencial de acción. Con base a los resultados de este estudio en células auriculares de rata, se estableció una relación matemática entre la concentración de CO y la disminución del APD. Los estudios atribuyen esta disminución al bloqueo de la corriente I_{CaL} [12], por lo cual, este trabajo se centró en simular y evaluar los efectos electrofisiológicos del CO sobre el canal iónico específico de Ca^{2+} tipo L y sobre el potencial de acción en miocitos auriculares humanos.

Los resultados in silico muestran el efecto proarrítmico del CO en el cardiomiocito auricular, generando un acortamiento del potencial de acción, debido principalmente al bloqueo que ejerce sobre la corriente I_{CaL} en una fracción mayor a medida que se incrementa su concentración. A la concentración más alta de CO disuelto (1000 μM), fue posible generar un rotor estable en el modelo de tejido auricular, lo cual corrobora su efecto pro-arrítmico. Estos resultados son consistentes con otros estudios experimentales, en los cuales se evidencia un efecto adverso del CO sobre el Ca^{2+} . En un estudio [26] con 28 ratas expuestas a CO a concentraciones de 150-200 ppm durante 12 horas diarias por 4 semanas, encontraron que el CO promueve un fenotipo patológico de cardiomiocitos mediante alteraciones de la dinámica del Ca^{2+} . La contaminación por CO aumentó el número de eventos arrítmicos.

No se encontró en la literatura estudios in silico del efecto del CO sobre células auriculares. Un estudio reciente mediante simulación matemática [30], después de modificar las corrientes de Na^+ y Ca^{2+} con base a la literatura experimental, mostró el efecto pro-arrítmico del CO en el potencial de acción ventricular, al generar post-despolarizaciones tempranas.

El desarrollo del presente trabajo aportará a la generación de nuevo conocimiento relacionado con un mejor entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos por los cuales los contaminantes atmosféricos como el CO pueden incrementar el riesgo a padecer arritmias cardíacas, lo que permitiría mejorar las técnicas de prevención de dichas patologías. Adicionalmente, contribuirá a establecer como factor de riesgo de eventos agudos cardíacos al CO, sirviendo como referencia científica para la implementación de políticas públicas por los entes gubernamentales.

5. Conclusiones

Los resultados in silico muestran el efecto pro-arrítmico del CO, al bloquea la corriente I_{CaL} en una fracción mayor a medida que aumenta su concentración, generando un acortamiento del APD y la generación de rotors a altas concentraciones. Este estudio in silico proporciona un paso útil para ilustrar las consecuencias electrofisiológicas del CO en el potencial de acción y tejido auricular sano.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por El Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias) y la Dirección General de

Política Científica de la Generalitat Valenciana (PROMETEU2016/088).

Referencias

- [1] OECD. The Cost of Air Pollution: Health Impacts of Road Transport. OECD Publishing, 2014.
- [2] European Environment Agency. Revealing the costs of air pollution from industrial facilities in Europe. Vol. 15. Publications Office of the European Union, 2011.
- [3] Miller KA, Siscovick DS, Sheppard L. Long-Term Exposure to Air Pollution and Incidence of Cardiovascular Events in Women. *N. Engl. J. Med.*, vol 356, sup 5, 2007, pp 447-58.
- [4] Brook RD, Franklin B, Cascio W. Air pollution and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the expert panel on population and prevention science of the American Heart Association. *Circulation*, vol 109, sup 21, 2004, pp 2655-71.
- [5] Finkelstein M. Pollution-related mortality and educational level. *JAMA*, vol 288, sup 7, 2002, pp 830.
- [6] Pope CA, Burnett RT, Thun MJ. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA*, vol 287, sup 9, 2002, pp 1132-41.
- [7] Link MS, Luttmann-Gibson H, Schwartz J. Acute exposure to air pollution triggers atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol 62, sup 9, 2013, pp 816-25.
- [8] Bhatnagar A. Cardiovascular pathophysiology of environmental pollutants. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol 286, sup 2, 2004, pp H479-85.
- [9] Henry CR, Satran D, Lindgren B. Myocardial Injury and Long-term Mortality Following Moderate to Severe Carbon Monoxide Poisoning. *JAMA*, vol 295, sup 4, 2006, pp 398-402.
- [10] Samoli E, Touloumi G, Schwartz J. Short-Term Effects of Carbon Monoxide on Mortality: An Analysis within the APHEA Project. *Environ. Health Perspect.*, vol 115, sup 11, 2007, pp 1578-83.
- [11] Abramochkin DV, Haertdinov NN, Porokhnya MV. Carbon monoxide affects electrical and contractile activity of rat myocardium. *J. Biomed. Sci.*, vol 18, sup 1, 2011, pp 40.
- [12] Uemura K, Adachi-Akahane S, Shintani-Ishida K. Carbon monoxide protects cardiomyogenic cells against ischemic death through L-type Ca²⁺-channel inhibition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol 334, sup 2, 2005, pp 661-8.
- [13] Dinanian S, Boixel C, Juin C. Downregulation of the calcium current in human right atrial myocytes from patients in sinus rhythm but with a high risk of atrial fibrillation. *Eur. Heart J.*, vol 29, sup 9, 2008, pp 1190-7.
- [14] Goralnick E, Bontempo L. Atrial Fibrillation. *Emerg. Med. Clin. North Am.*, vol 33, sup 3, 2015, pp 597-612.
- [15] Jalife J. Rotors and spiral waves in atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol 14, sup 7, 2003, pp 776-80.
- [16] Courtemanche M, Ramirez R, Nattel S. Ionic targets for drug therapy and atrial fibrillation-induced electrical remodeling: insights from a mathematical model. *Cardiovasc. Res.*, vol 42, sup 2, 1999, pp 477-89.
- [17] Kneller J, Zou R, Vigmond EJ. Cholinergic atrial fibrillation in a computer model of a two-dimensional sheet of canine atrial cells with realistic ionic properties. *Circ. Res.*, vol 90, sup 9, 2002, pp E73-87.
- [18] Pandit SV, Berenfeld O, Jalife J. Ionic determinants of functional reentry in a 2-D model of human atrial cells during simulated chronic atrial fibrillation. *Biophys J.*, vol 88, 2005 pp 3806-21.
- [19] Calvo CJ, Deo M, Zlochiver S. Attraction of rotors to the pulmonary veins in paroxysmal atrial fibrillation: a modeling study. *Biophys J.*, vol 106, sup 8, 2014, pp 1811-21.
- [20] Ugarte JP, Tobón C, Orozco-Duque A, Becerra MA. Effect of the electrograms density in detecting and ablating the tip of the rotor during chronic atrial fibrillation: an in silico study. *Europace*, vol 17, 2015, pp ii97-104.
- [21] Clayton RH, Holden AV. Propagation of normal beats and re-entry in a computational model of ventricular cardiac tissue with regional differences in action potential shape and duration. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol 85, 2004, pp 473-99.
- [22] Ugarte J, Tobón C, Orozco-Duque A. Generation of fibrillatory dynamics in cardiac tissue: fractional diffusion as arrhythmogenic mechanism modelling tool. *Appl. Math. Sci.*, vol 11, sup 13, 2017, pp 637-50.
- [23] Bell ML, Peng RD, Dominici F. Emergency hospital admissions for cardiovascular diseases and ambient levels of carbon monoxide results for 126 united states urban counties, 1999-2005. *Circulation*, vol 120, sup 11, 2009, pp 949-55.
- [24] Stieb DM, Szyszkowicz M, Rowe BH. Air pollution and emergency department visits for cardiac and respiratory conditions: a multi-city time-series analysis. *Environ. Heal.*, vol 8, sup 1, 2009, pp 25.
- [25] Burnett RT, Cakmak S, Brook JR. The role of particulate size and chemistry in the association between summertime ambient air pollution and hospitalization for cardiorespiratory diseases. *Environ. Health Perspect.*, vol 105, sup 6, 1997, pp 614-20.
- [26] Andre L, Boissière J, Reboul C. Carbon monoxide pollution promotes cardiac remodeling and ventricular arrhythmia in healthy rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol 181, sup 6, 2010, pp 587-95.
- [27] Ter Keurs HEDJ, Boyden PA. Calcium and Arrhythmogenesis. *Physiol. Rev.*, vol 87, sup 2, 2007, pp 457-506.
- [28] Meyer G, André L, Kleindienst A. Carbon monoxide increases inducible NOS expression that mediates CO-induced myocardial damage during ischemia-reperfusion. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.*, vol 308, sup 7, 2015, pp H759-67.
- [29] Wilkinson WJ, Kemp PJ. Carbon monoxide: an emerging regulator of ion channels. *J. Physiol.*, vol 589, sup 13, 2011, pp 3055-62.
- [30] Trenor B, Cardona K, Saiz J. Carbon monoxide effects on human ventricle action potential assessed by mathematical simulations. *Front. Physiol.*, vol 4, sup 282, 2013, pp 1–11.

Estudio *in-silico* de la cardiotoxicidad inducida por fármacos en células ventriculares sanas y con insuficiencia cardíaca

J. Llopis-Lorente¹, J. Cano¹, J. Gomis-Tena¹, L. Romero¹, B. Trenor¹, J. Saiz¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, València, España, jorllolo@etsii.upv.es, jordi.cg89@gmail.com, jgomiste@eln.upv.es, {lromero, btrenor, jsaiz}@ci2b.upv.es

Resumen

Uno de los posibles efectos adversos de un fármaco es la generación de Torsade de Pointes (TdP), un tipo de taquicardia ventricular potencialmente letal, responsable de la retirada de muchos fármacos del mercado. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto farmacológico sobre las características electrofisiológicas de cardiomiocitos ventriculares sanos y con insuficiencia cardíaca (IC) y proponer un nuevo método para predecir el riesgo de producir TdP.

Se han realizado simulaciones celulares utilizando una versión modificada del modelo ventricular endocárdico de O'Hara-Rudy, un modelo de célula con IC y datos farmacológicos (IC_{50} , h y EFTPC) de los 28 medicamentos de la iniciativa CiPA. Así, se ha comprobado que la duración del potencial de acción, la dinámica del Ca^{2+} y la q_{Net} (área bajo la curva de $I_{CaL}+I_{NaL}+I_{Kr}+I_{Ks}+I_{K1}+I_{to}$) son mucho más sensibles a alteraciones en la I_{Kr} y la I_{NaL} en condiciones de IC. También se ha desarrollado un clasificador ternario del riesgo de TdP consiguiendo un 82.1% de precisión, superior a ensayos *in-vitro* o algunos modelos animales. Al evaluar el efecto sobre cardiomiocitos con IC con este clasificador, se ha visto que algunos de los fármacos de riesgo intermedio (astemizol, cisaprida, claritromicina, domperidona, droperidol y risperidona) pasan a considerarse de alto riesgo, mientras que todos los de bajo riesgo permanecen en esa categoría.

En conclusión, se ha propuesto una herramienta *in-silico* que puede ser útil para la evaluación farmacológica del riesgo de inducción de TdP y demuestra que bajo condiciones patológicas algunos medicamentos aumentan su cardiotoxicidad.

1. Introducción

En los últimos años, una gran cantidad de fármacos han tenido que ser retirados del mercado por su asociación con Torsade de Pointes (TdP), un tipo de taquicardia ventricular. Rápidamente se identificó que estos medicamentos normalmente bloqueaban el canal hERG. El bloqueo de este canal reduce la corriente I_{Kr} por lo que prolonga la repolarización cardíaca y con el ello el intervalo QT, aumentando el riesgo de arritmias [1]. Además, estas arritmias pueden ser de mayor gravedad en condiciones patológicas como la insuficiencia cardíaca (IC). Como consecuencia, se elaboraron dos guías regulatorias internacionales para evaluar la cardiotoxicidad de los fármacos (la ICH S7B y la ICH E14). Estas guías proponen realizar un ensayo *in-vitro* para evaluar el grado de bloqueo del canal hERG y un ensayo clínico para medir la prolongación del intervalo QT. Sin embargo, pese a ser métodos seguros, son caros y suelen producir un elevado número de falsos positivos, pudiendo ocasionar importantes pérdidas económicas [2].

Bajo estas circunstancias, en 2013 surgió la iniciativa *Comprehensive in-vitro Proarrhythmia Assay* (CiPA). El objetivo de CiPA es desarrollar un protocolo estandarizado y seguro para determinar el riesgo de generar TdP que puede ser de utilidad durante las fases tempranas del desarrollo de fármacos [3, 4]. Uno de los objetivos fundamentales de esta iniciativa es el desarrollo de herramientas *in-silico* que permitan una mejor comprensión de los fenómenos arritmogénicos y puedan clasificar un fármaco según su riesgo de generar TdP [3].

El objetivo de este trabajo es realizar un análisis comparativo *in-silico* del efecto farmacológico en células ventriculares sanas y con IC.

2. Metodología

2.1. Modelos *in-silico* de potencial de acción

El estudio de las características del potencial de acción (PA) de las células sanas se ha realizado utilizando una versión modificada (ORDmJ) del modelo de cardiomiocito ventricular endocárdico de O'Hara-Rudy [5]. Estas modificaciones incluyen: un aumento de las conductancias de las corrientes I_{Kr} , I_{Ks} , I_{K1} , I_{CaL} e I_{NaL} [6], la inclusión del modelo dinámico de Markov para la corriente I_{Kr} de Li et al. [7] y las modificaciones de la corriente I_{Na} propuestas por Passini et al. y Mora et al. [8, 9].

El modelo de PA de cardiomiocito ventricular con IC (HFORDmJ) se ha obtenido introduciendo el remodelado eléctrico planteado por Gómez et al. [10] sobre el modelo ORDmJ. Hay que señalar que en el presente trabajo, para reproducir más fielmente la duración del potencial de acción y la dinámica del Ca^{2+} , la máxima conductancia de la corriente I_{NaL} fue escalada por un factor de 130%, en lugar del factor de 180% que propusieron Gómez et al. No obstante, ambos valores están dentro de los rangos de aumentos de conductancia de la I_{NaL} medidas experimentalmente en células con IC [11].

2.2. Análisis de sensibilidad del efecto farmacológico

Con el objetivo de estudiar de manera general cómo afectan las alteraciones de las corrientes iónicas producidas por los fármacos a las características electrofisiológicas, tanto de los cardiomiocitos normales como de los cardiomiocitos con IC, se ha realizado un análisis de sensibilidad univariante en ambos modelos [9,11]. Para simular el efecto farmacológico se ha

asumido el modelo de bloqueo de poro simple [12]. Por ello, la estrategia empleada ha consistido en modular las conductancias individuales de los canales iónicos por un factor de escala de $\pm 60\%$. De esta forma se abarcan los posibles efectos de incremento o inhibición del mecanismo de transporte iónico que podría tener un medicamento [9]. Las corrientes estudiadas han sido las corrientes consideradas como fundamentales por el proyecto CiPA [3]: I_{Kr} , I_{CaL} , I_{Na} , I_{NaL} , I_{to} , I_{Ks} , e I_{K1} .

Los parámetros electrofisiológicos estudiados han sido: la duración del PA desde el inicio de la despolarización hasta el 30% y el 90% de la repolarización (APD30 y APD90), el voltaje pico a pico (V_{pp}), el pico sistólico y el valor diastólico de la concentración de Ca^{2+} intracelular ($[Ca^{2+}]_i$ sist y $[Ca^{2+}]_i$ diast), la duración del transitorio de Ca^{2+} desde el inicio de la subida hasta el 30% y el 90% de la recuperación al valor diastólico (CaTD30 y CaTD90), la triangulación del transitorio de calcio (CaTD90-30), definida como CaTD90-CaTD30 y el parámetro q_{Net} , descrito por Dutta et al. [6] como la carga neta que forma la corriente neta durante un latido (definida como $I_{net} = I_{CaL} + I_{NaL} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{to}$). Todos estos parámetros se han calculado tras estimular células endocárdicas a 1Hz con una corriente de estimulación de $-80 \mu A/\mu F$ y 5 ms de duración, sobre el latido 1000, después de haber alcanzado el estado estacionario.

Una vez calculados estos parámetros en todas las condiciones, el análisis de los datos se ha realizado según proponen los autores [9, 11]. De esta forma, para cada parámetro electrofisiológico se ha calculado el porcentaje de cambio ($D_{c,p,x}$) y la sensibilidad ($S_{c,p}$) con las siguientes ecuaciones:

$$D_{c,p,x} = \frac{c_{p,x} - c_{control}}{c_{control}} \cdot 100 \quad (1)$$

$$S_{c,p} = \frac{D_{c,p,2} - D_{c,p,1}}{\Delta a} \cdot 100 \quad (2)$$

donde $c_{p,x}$ es el valor biomarcador c cuando la corriente p sufre un cambio con respecto al modelo normal ORdmJ (si el cambio es un aumento, $x = 2$, y si es un bloqueo del canal, $x = 1$); $c_{control}$ es el valor del biomarcador en el modelo normal ORdmJ; y Δa es el intervalo de cambio de la corriente p . Adicionalmente, para identificar las corrientes con una mayor influencia sobre cada parámetro estudiado, se han normalizado las sensibilidades con respecto a la máxima sensibilidad absoluta de cada parámetro.

2.3. Fármacos estudiados

Los fármacos estudiados en este trabajo han sido los 28 fármacos seleccionados y clasificados por un grupo de expertos en el marco del proyecto CiPA [3].

Para cada uno de estos fármacos se ha buscado el valor de IC_{50} y el coeficiente de Hill para las 6 corrientes fundamentales y el valor máximo de concentración plasmática terapéutica libre (EFTPC) en bases de datos como DailyMed, PubChem, DrugBank o ToxPortal, y en literatura científica. Los datos, siempre que estuvieran disponibles, se han obtenido de estudios realizados a $37^\circ C$ y en células de mamíferos, descartando en todos los casos

los estudios realizados en ovocitos de *Xenopus*. En los casos en que no se ha encontrado valores de IC_{50} para un determinado canal, se ha considerado que el fármaco no afecta directamente a ese canal. Finalmente, para las simulaciones se ha tomado el valor mediano de los datos encontrados.

El efecto de cada fármaco se ha simulado, siguiendo también el modelo de poro simple, escalando la conductividad máxima de un determinado tipo de canal iónico por la fracción de canales no bloqueados. La fracción de canales no bloqueados se ha calculado a partir del IC_{50} , el coeficiente de Hill y la concentración de fármaco mediante la ecuación de Hill [12, 13].

2.4. Clasificadores

Se han construido dos clasificadores ternarios (riesgo alto, bajo o intermedio) con el fin de predecir la cardiotoxicidad de los fármacos.

El primer clasificador, tomando como base la guía ICH S7B, se ha elaborado buscando las fronteras que mejor delimiten las tres clases de fármacos a partir del pIC_{50hERG} ($pIC_{50hERG} = -\log(IC_{50hERG})$).

El otro clasificador está compuesto por 7 de árboles de decisión. Cada uno de los árboles ha sido entrenado con un subconjunto aleatorio de 21 fármacos, resultado de aplicar un *7-fold*. La clasificación final de este clasificador es la clase más votada entre la clase que predice cada uno de los árboles. El entrenamiento de este clasificador se ha realizado con los resultados de las simulaciones de cardiomiocito sano en estado estacionario (después de 1000 estímulos). Este clasificador utiliza 3 parámetros de entrada:

- T_x : propuesto por Romero et al. [13], es la relación entre la concentración de fármaco necesaria para prolongar un 10% el APD90 y la EFTPC.
- T_{qNet} : es el ratio entre la q_{Net} cuando la concentración de fármaco es $10 \cdot EFTPC$ y q_{Net} en el cardiomiocito control (sin fármaco).
- T_{EAD} : es la relación entre la concentración de fármaco necesaria para generar un EAD y la EFTPC. El protocolo de estimulación para generar las EADs ha consistido en aplicar 1000 estímulos a 1 Hz, dejar una pausa de 2000 ms y aplicar un extraestímulo.

Por último, se han calculado el T_x , el T_{qNet} y el T_{EAD} para las simulaciones del efecto farmacológico en los cardiomiocitos con IC (considerando como condiciones control las del cardiomiocito con IC sin fármaco) y se ha utilizado el segundo clasificador para comprobar cuáles de los fármacos aumentaban el riesgo de padecer TdP más allá del riesgo que supone el padecer IC.

3. Resultados y discusión

3.1. Efectos farmacológicos sobre el PA

En la **Figura 1** se muestran los resultados del análisis de sensibilidad, donde en blanco aparece el valor de la sensibilidad absoluta máxima para cada parámetro y los signos “+” y “-” indican si la relación entre la variación de la corriente y la variación del parámetro es directa o inversa.

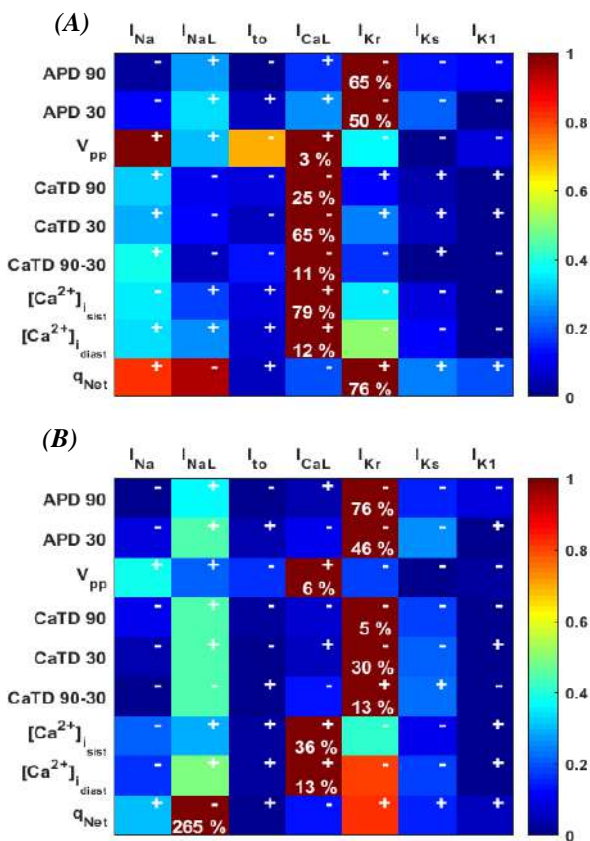


Figura 1. Análisis de sensibilidad del modelo de potencial de acción del cardiomiocito sano (A) y el cardiomiocito con insuficiencia cardíaca (B).

Se puede observar que en ambos modelos, la duración del potencial de acción (APD90 y APD30) está muy influenciada por I_{Kr}, seguida por I_{NaL}, aunque la influencia de estas corrientes es mayor en el cardiomiocito con IC. La influencia de las corrientes sobre el V_{pp} es baja en ambos modelos. Respecto a la dinámica del Ca²⁺ en el cardiomiocito sano, la sensibilidad de todos los parámetros relacionados con ella depende fundamentalmente de I_{CaL}; sin embargo, en el cardiomiocito con IC, llama la atención que para CaTD90, CaTD30 y CaTD90-30 cobran mayor importancia I_{Kr} e I_{NaL}. Esto permite vislumbrar que fármacos que afecten a estos canales, en condiciones de IC van a afectar la capacidad de contracción del cardiomiocito. En lo relativo a la q_{Net}, las corrientes I_{Kr} e I_{NaL}, tienen una sensibilidad mayor del 200% en IC, muy superior a la del cardiomiocito sano.

Como ejemplo del efecto de los fármacos sobre las características del PA, en la **Figura 2** se muestra el PA del cardiomiocito sano y del cardiomiocito con IC en

condiciones control (sin fármaco), bajo los efectos de un fármaco de alto riesgo (vandetanib) y en presencia de un fármaco de bajo riesgo (loratadina). Puede verse que el fármaco de alto riesgo prolonga el PA en ambos cardiomiocitos, siendo mayor la prolongación del cardiomiocito con IC. El loratadine en cambio, no produce prácticamente ningún efecto en ninguno de los cardiomiocitos.

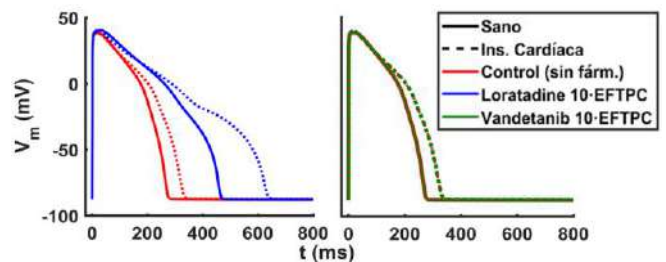


Figura 2. PA de un cardiomiocito sano (línea continua) y un cardiomiocito con IC (línea discontinua). En rojo se muestra el PA en condiciones control, en azul (izquierda) se muestra el efecto del vandetanib (fármaco de alto riesgo) y en verde (derecha) el efecto de la Loratadina (fármaco de bajo riesgo).

3.2. Clasificadores del riesgo de inducción de TdP

En la **Figura 3** se muestran los resultados del clasificador basado en el ensayo del canal hERG propuesto por la guía ICH S7B. Según este clasificador, aquellos fármacos que bloquean en mayor medida este canal, prolongan más el APD90, lo que supone un mayor riesgo de generar TdP y tienen mayores pIC₅₀hERG.

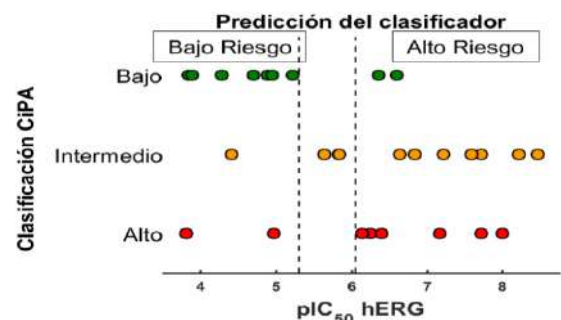


Figura 3. Relación entre los valores pIC₅₀hERG y la clasificación de CiPA. Las líneas verticales marcan los límites entre clases. La línea de la izquierda equivale a pIC₅₀hERG = 5.22 y separa bajo riesgo y riesgo intermedio; la línea vertical es pIC₅₀hERG = 6.14 y separa riesgo intermedio de riesgo alto.

Este clasificador presenta un 57.1% de precisión (*accuracy*) global, pues clasifica correctamente 6 de los 8 fármacos de alto riesgo (los dos mal clasificados son la disopiramida y el sotalol, que siendo de alto riesgo se clasificarían como bajo riesgo), 3 de los 11 de riesgo intermedio (clorpromazina, cisaprida y ondansetron), y 7 de los 9 de bajo riesgo (clasificando erróneamente en la categoría de alto riesgo el tamoxifeno y el verapamilo).

La matriz de confusión del clasificador basado en árboles de decisión se muestra en la **Figura 4**. La precisión global es del 82.1%, mejorando especialmente la clasificación de riesgo intermedio. Los fármacos mal clasificados han sido: el sotalol, que se ha clasificado como riesgo intermedio en lugar de como alto riesgo tal y como propone CiPA; el cisapride y el droperidol, fármacos de

riesgo intermedio que se catalogarían como alto riesgo; y el verapamilo y el tamoxifeno, que en lugar de como bajo riesgo, se clasifican como riesgo intermedio.

		Predicción del clasificador		
		Alto Riesgo	Riesgo Intermedio	Bajo Riesgo
Clasificación según CiPA	Alto Riesgo	7	1	0
	Riesgo Intermedio	2	9	0
	Bajo Riesgo	0	2	7

Figura 4. Matriz de confusión del clasificador basado en árboles de decisión.

Los resultados de este clasificador, son superiores a los resultados del clasificador basado en los resultados del ensayo *in-vitro* del bloqueo del canal hERG. Incluso mejoran la precisión del 75% obtenida al estudiar 64 compuestos en un montaje tipo Langendorff con un corazón de conejo [14]. En comparación con otros clasificadores *in-silico* [13, 15], se encuentra en el rango de precisiones (entre el 80-90%), aunque estos clasificadores son simplemente clasificadores binarios. En nuestro caso, si convirtiéramos el clasificador en un clasificador binario considerando las clases de alto riesgo y riesgo intermedio CiPA de como torsadogénicas, y los fármacos de bajo como no-torsadogénicos, la precisión del clasificador aumentaría hasta un 92.9%, clasificando mal únicamente el verapamilo y el tamoxifeno. Cabe comentar también que si se hubieran considerado datos farmacológicos dinámicos, como en [6], seguramente se hubiese recogido mejor el comportamiento de los fármacos mal clasificados. Sin embargo, estos datos no se consideraron porque sólo estaban disponibles para un pequeño grupo de fármacos [3].

Por otro lado, una de las ventajas de este clasificador respecto al basado en $pIC_{50}hERG$, es que puede utilizarse con los datos electrofisiológicos de las células con IC y ver qué fármacos añaden un mayor riesgo arritmogénico al que supone padecer IC. Así, se ha visto que todos los fármacos de alto riesgo siguen clasificándose como alto riesgo. Los fármacos de riesgo intermedio astemizol, cisaprida, claritromicina, domperidona, droperidol y Risperidona pasan a la clasificación de alto riesgo, lo que supone indica que habría que evitar tratar a los pacientes con IC con estos fármacos. En cambio, los fármacos de bajo riesgo que se habían clasificado correctamente en condiciones sanas, seguían siendo de bajo riesgo en condiciones de IC. Estos resultados podrían ser de ayuda a la hora de tratar pacientes con IC, ya que actualmente no existe un criterio bien formado y definido entre los profesionales clínicos sobre el manejo de pacientes con IC con fármacos que prolongan el intervalo QT.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha realizado un estudio *in-silico* sobre cardiotoxicidad farmacológica en células ventriculares sanas y con IC. También se ha construido un clasificador ternario, basado en medidas electrofisiológicas relacionadas con las TdP, tal y como propone la iniciativa CiPA [4]. Este clasificador podría ser de gran utilidad en las fases tempranas de desarrollo de fármacos, ayudando a

mejorar la predictibilidad clínica, a disminuir los costes de desarrollo y a evitar efectos adversos en pacientes y la retirada de nuevos medicamentos del mercado.

Además se ha demostrado que bajo circunstancias patológicas, como la insuficiencia cardíaca, muchos de los fármacos suponen gran riesgo adicional de sufrir TdP. Esto pone de manifiesto la necesidad de investigar la cardiotoxicidad bajo condiciones patológicas y reajustar las dosis en este tipo de pacientes.

Como trabajo futuro se pretende mejorar y comprobar la robustez del clasificador con un conjunto mayor de fármacos, e incluir la componente de variabilidad interpersonal utilizando poblaciones de modelos de cardiomiocitos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Dirección General de Política Científica de la Generalitat Valenciana (PROMETEU20162016/088) y por el Ministerio de Economía y Competitividad y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) DPI2015-69125-R (MINECO/FEDER, UE) y el Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016 DPI2016-75799-R (AEI/FEDER, UE).

Referencias

- [1]. Roden DM. Drug-induced prolongation of the QT interval. *N Engl J Med*, vol 350, no 10, 2004, pp 1013–22.
- [2]. Adam CP, Brantner VV. Spending on new drug development. *Health Econ.*, v10 19, no 2, 2010, pp 130–41.
- [3]. Colatsky T *et al.* The Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) initiative — Update on progress. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, vol. 81, 2016, pp. 15–20.
- [4]. Fermini B *et al.* A New Perspective in the Field of Cardiac Safety Testing through the Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay Paradigm. *J. Biomol. Sscreen.*, vol 21, no 1, 2016, pp 1-11.
- [5]. 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, no 5, 2011.
- [6]. Dutta S *et al.* Optimization of an in silico cardiac cell model for proarrhythmia risk assessment. *Front. Physiol.*, vol 8, 2017, pp 1-15.
- [7]. Li Z *et al.* Improving the in silico assessment of proarrhythmia risk by combining hERG (Human Ether-à-go-go-Related Gene) channel-drug binding kinetics and multichannel pharmacology. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.*, vol. 10, no 2, 2017.
- [8]. Passini E *et al.* Journal of Molecular and Cellular Cardiology 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.
- [9]. Mora MT, Ferrero JM, Romero L, Trenor B. Sensitivity analysis revealing the effect of modulating ionic mechanisms on calcium dynamics in simulated human heart failure. *PLoS One*, 2017, pp 1-19.
- [10]. 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, no 9, 2014.
- [11]. Trenor B *et al.* Simulation and mechanistic investigation of the arrhythmogenic role of the late sodium current in human heart failure. *PLoS One*, vol 7, no 3, 2012, pp. 11-13.
- [12]. Mirams GR *et al.* Simulation of multiple ion channel block provides improved prediction of compounds' clinical torsadogenic risk. *Cardiovasc. Res.*, vol 91, no 1, 2011, pp 53-61.
- [13]. L. Romero *et al.* In Silico QT and APD Prolongation Assay for Early Screening of Drug- Induced Proarrhythmic Risk. *J. Chem. Inf. Model.*, vol 58, 2018, pp. 867–878.
- [14]. Lawrence CL, Bridgland-taylor MH, Pollard CE, Hammond TG, Valentin J. A Rabbit Langendorff Heart Proarrhythmia Model: Predictive Value for Clinical Identification of Torsades de Pointes. *Br. J. Pharmacol.*, vol 149, 2006, pp. 845–860.
- [15]. Passini E *et al.* Human In Silico Drug Trials Demonstrate Higher Accuracy than Animal Models in Predicting Clinical. *Front. Physiol.*, vol 8, 2017 pp. 668.

Definición de un Flujo de Trabajo para el Desarrollo de Modelos Computacionales Personalizados del Cerebro

L. Tejero Torres, J. Reina Tosina, M. A. Callejón Leblic

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

Resumen

Las imágenes de resonancia magnética (MRI) constituyen la base para realizar un modelado computacional de la cabeza humana en el contexto de planificación de las técnicas de estimulación cerebral no invasivas, con el fin de analizar la anatomía del individuo y estudiar los flujos de corriente del cerebro. Aunque existen numerosas herramientas para el tratamiento de imágenes MRI, no existe un flujo de trabajo armonizado para la elaboración de esos modelos. En esta comunicación se realiza una revisión de los formatos más apropiados para trabajar con imágenes MRI, específicamente NIFTI. A continuación, se realiza un estudio comparativo de SPM12, ROAST y SIMNIBS en relación a la segmentación de las imágenes. Con los resultados obtenidos se procede al mallado superficial realizado con iso2mesh. Por último, se analizan las herramientas Metch, de iso2mesh, y Mesh2EEG destinadas a colocar los electrodos sobre la cabeza del sujeto. Tras analizar los resultados obtenidos y posterior elección de métodos, se ha realizado un flujo de trabajo que contiene todos estos pasos realizados de forma automática.

1. Introducción

El análisis de la imagen de resonancia magnética (MRI) se ha demostrado muy importante tanto en investigación como en estudios clínicos destinados al desarrollo, la función y la patología del cerebro humano [1], y sobre todo en estudios relacionados con terapias orientadas al tratamiento de problemas neurológicos mediante técnicas no invasivas, entre las que destacan los métodos de estimulación neuronal magnética (tMS) y eléctrica (tES) transcraneal. En ambos casos, la técnica se aplica disponiendo una bobina o unos electrodos en la parte externa de la cabeza del paciente, a través de los cuales se induce una corriente eléctrica sobre los tejidos cerebrales. Los investigadores usan esta técnica para conocer cómo se relaciona la actividad cerebral con los procesos cognitivos. También se utiliza para estudiar enfermedades como Parkinson, depresión o epilepsia. A pesar de los avances logrados con estas técnicas, se desconocen los mecanismos bioeléctricos que subyacen al proceso de neuroestimulación, y se evidencia una falta de metodología para el establecimiento de los parámetros de estimulación que, a menudo, se fijan en base a la experiencia del médico/neurofisiólogo y los estándares de seguridad.

Los avances en modelado computacional han permitido desentrañar algunos de los aspectos relacionados con el acoplo de campos electromagnéticos y los tejidos biológicos, contribuyendo a que se pueda cubrir el salto

entre la aplicación de las técnicas de neuroestimulación y una planificación de la intervención. Estos modelos proporcionan conocimiento sobre los flujos de corriente en los distintos tejidos cerebrales, y por tanto se apoyan en una representación realista de la anatomía de la cabeza sobre la que se va a intervenir, que se deriva, con frecuencia, de la reconstrucción tridimensional a partir de imágenes MRI. Así, las imágenes de resonancia magnética constituyen una base fundamental para realizar un modelado computacional de la cabeza humana [2].

Existen numerosas herramientas destinadas al tratamiento de imágenes, como SPM, FreeSurfer, FSL, iso2mesh, ROAST, entre otras. Dada la diversidad de herramientas, la calidad de los modelos computacionales es fuertemente dependiente de los métodos que utilicen y su secuenciación, echándose en falta una metodología que ayude a seleccionar los procesos necesarios para poder derivar modelos computacionales de utilidad en investigación y terapia. Por este motivo, en este trabajo se propone un flujo de trabajo que tiene por objeto realizar de forma metódica el proceso de obtener un modelo computacional del cerebro a partir de la MRI de una persona.

2. Materiales y Métodos

En esta sección se presentan las diferentes herramientas que se han evaluado para alcanzar los objetivos propuestos en este trabajo, comenzando con la visualización de las MRI y los posibles formatos en los que se pueden presentar dichas imágenes. Además, se exponen los distintos pasos seguidos para la elaboración de un flujo de trabajo de utilidad para modelos computacionales del cerebro, y que se resumen en el diagrama de la Figura 1. Estos son la segmentación de la imagen de resonancia magnética, el mallado superficial y volumétrico de los tejidos, y la posterior colocación de electrodos sobre la piel. Se ha tomado la consideración de que todas las herramientas utilizadas sean de código libre.

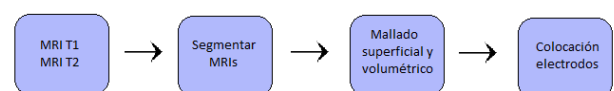


Figura 1. Flujo de trabajo propuesto.

Los dos formatos de imágenes utilizados en este trabajo son DICOM [3] y NIFTI [4]. La herramienta NIFTI, desarrollada en Matlab, permite la visualización de las

MRIs, su reorientación, y la conversión de coordenadas vóxel a coordenadas mundo, entre otros aspectos.

También se han considerado otras herramientas para comprender la matriz de la imagen que se representa. Así, *imshow* permite visualizar la imagen en escala de grises; *imagesc* e *image* la visualizan en un rango diferente de colores. Por otro lado, *MRIcron* [5] puede cargar múltiples capas de imágenes en dos dimensiones, generar representaciones de volúmenes y dibujar regiones de interés y estadísticas.

2.1. Segmentación

Para la segmentación de las MRIs se han utilizado las herramientas *SPM8* [6], *SPM12* [7] y *SIMNIBS* [8]. Además, se ha evaluado la calidad de la segmentación ofrecida por *SPM12* con la herramienta *ROAST* [9]. *ROAST* es un toolbox desarrollado en Matlab con funciones de *SPM8* para simular la estimulación eléctrica transcraneal de forma automática. Realiza la segmentación con una plantilla distinta a la utilizada en *SPM12* o *SPM8*, por lo que se obtienen diferentes resultados. Por su parte, *SIMNIBS* utiliza *FreeSurfer* para segmentar el cerebro y *FSL BET/BET surf* para el resto de la cabeza.

2.2. Mallado superficial

Para realizar las mallas superficiales (paso previo a obtener malla volumétrica) se ha empleado el toolbox *iso2mesh*. Según el procedimiento elaborado por *iso2mesh*, existen dos alternativas para obtener una malla superficial a partir de una MRI: el método *binsurface* y *vol2surf*. Para el primero se debe introducir como argumento de entrada la imagen *.nii* del tejido que se quiera reconstruir, teniendo en cuenta que la imagen debe ser binaria. También es necesario cerrar todos los agujeros que puedan haber quedado tras la segmentación, rellenando la imagen. Con la alternativa *vol2surf* se pueden usar dos métodos: *simplify* y *cgalsurf*. El primero llama a *binsurface* por lo que consistiría en el mismo procedimiento anterior. El segundo crea la superficie triangular directamente de la imagen volumétrica de entrada, usando una versión modificada del programa de extracción de superficie *CGAL*.

2.3. Mallado volumétrico

Para la creación de mallas volumétricas es necesario tener previamente la malla superficial correspondiente. El método propuesto por *iso2mesh* es el denominado *surf2mesh*, el cual crea una malla volumétrica desde una superficie utilizando el generador de malla 3D denominado *tetgen*. Para ello, se necesitan los puntos interiores a esas superficies.

2.4. Colocación de electrodos

Después de la malla superficial, se procede a la colocación de electrodos sobre la misma. Para ello se han estudiado tres alternativas que calculan las posiciones de los electrodos en la cabeza del sujeto de acuerdo a las coordenadas de tres sistemas internacionales estándar de colocación de electrodos (10/05, 10/10, 10/20). Las

herramientas estudiadas son *Metch* (de *iso2mesh*), *Mesh2EEG* y *ROAST*.

Metch es una herramienta dentro de *iso2mesh* que sirve para ubicar, sobre la malla superficial de la piel, unas posiciones determinadas por una matriz. Esas posiciones son las coordenadas de alguno de los tres sistemas internacionales indicados anteriormente. A partir de los puntos de referencia Nasion, Cz, T3 y T4 se realiza un mapeo de estas coordenadas al espacio donde se encuentra la cabeza mallada del sujeto, obteniéndose una nube de puntos. El inconveniente que presenta es que, en algunos casos, estos puntos no se corresponden muy bien con las posiciones del sistema elegido.

Mesh2EEG es una herramienta que computa las posiciones de los electrodos EEG dadas las caras (*faces*) y nodos de una malla, y las posiciones de Nasion, Inion, T3 y T4. Con esos cuatro puntos, se calcula, sobre la malla superficial, el punto Cz y se optimiza para que se sitúe sobre la piel del sujeto. Una vez obtenido el punto Cz optimizado, va trazando arcos sobre la cabeza basados en los cuatro puntos de referencia y Cz. Por último, utiliza estos arcos para calcular todo el resto de puntos de las posiciones de EEG. Cabe destacar que este método es más preciso que el anterior. Su inconveniente es que requiere introducir los cuatro puntos de referencia manualmente.

ROAST mapea los marcadores Nz, Iz, T3, T4, parte del cuello frontal y parte trasera del cuello en el archivo *TPM.nii*. Dado que esos marcadores están definidos sobre la plantilla TPM, ya tienen unas coordenadas fijadas. Luego mapea estas coordenadas al espacio de la MRI. Detecta los puntos que pertenecen a la superficie de la MRI, calcula el lugar de los electrodos a partir de la MRI, de los puntos de la superficie de la MRI y de los marcadores predefinidos. Esta solución es menos eficiente al colocar los electrodos sobre la MRI y mallar todo el conjunto.

3. Resultados y discusión

En esta sección se describen los resultados derivados de la investigación realizada en este trabajo. Se muestran los resultados de las segmentaciones realizadas con *SPM12*, *ROAST* y *SIMNIBS*, los resultados de las mallas superficiales con ambos métodos, los del mallado volumétrico y, por último, el método utilizado para colocar los electrodos, incluyendo mejoras y la reconstrucción de los electrodos en forma de cilindro.

3.1. Resultados de la segmentación realizada con *SPM12*

Se han segmentado dos MRIs T1 y T2 pertenecientes a un mismo sujeto con la herramienta *SPM12*. La figura 1 muestra la segmentación del cráneo para T1 y T2, respectivamente.

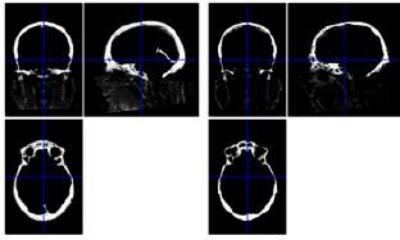


Figura 2. Cráneo segmentado con SPM12 de T1 (derecha) y T2 (izquierda).

Se observa que en la segmentación del cráneo existen imperfecciones alrededor, aunque segmenta hasta el cuello, siendo mucho mejor en el resultado de T2. Cabe destacar que SPM12 realiza muy buena segmentación del cráneo y del fluido cerebroespinal.

3.2. Resultados de la segmentación realizada con ROAST

Se han segmentado las mismas MRIs T1 y T2 usando ROAST, es decir, usando SPM8 y su plantilla *eTPM* [9]. La ventaja de ROAST es que combina ambas imágenes, obteniéndose mejores resultados (véase la figura 3). También se han segmentado las imágenes con ROAST, pero usando la plantilla de SPM8 denominada *TPM*.

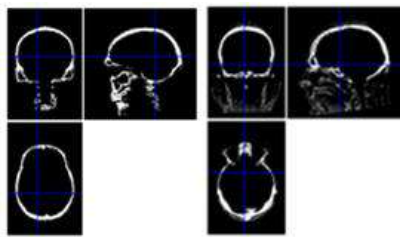


Figura 3. Cráneo segmentado con ROAST usando *eTPM* (izquierda) y *TPM* (derecha).

Por último, dado que SPM8 es la base para la versión SPM12, en la figura 4 se muestra la segmentación de las mismas imágenes con ROAST, pero utilizando SPM12 en lugar de SPM8, usando la plantilla *eTPM* dados sus mejores resultados con respecto a la plantilla *TPM*.

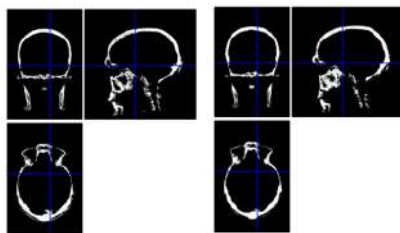


Figura 4. Comparativa de la segmentación del cráneo realizada con ROAST usando SPM8 (izquierda) y SPM12 (derecha).

En todas las figuras anteriores se puede observar como SPM12 realiza una segmentación más precisa que SPM8. Por ejemplo, en el cráneo, SPM8 detecta como hueso parte de tejido que no lo es, mostrándose en la vista transversal una segmentación menos limpia. Esto también ocurre con los demás tejidos.

ROAST también calcula las máscaras de los tejidos con niveles comprendidos entre 0 y 255. Para la posterior reconstrucción de las mallas superficiales volumétricas se

necesitan las máscaras binarias, por lo que se ha modificado la función utilizada por ROAST para calcular las máscaras binarias entre 0 y 1.

3.3. Resultados de la segmentación realizada con SIMNIBS

En esta subsección se presentan los resultados de segmentación obtenidos con SIMNIBS y representados con la ayuda del toolbox NIFTI de Matlab, para las MRIs T1 y T2.

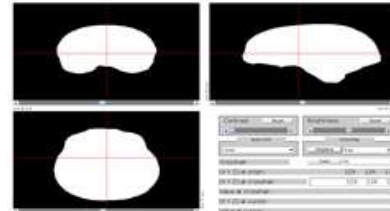


Figura 5. Cráneo segmentado con SIMNIBS.

Tal y como se observa en la figura 5, la segmentación del cráneo es poco realista al no segmentar los huecos de los ojos, además de no segmentar el cuello. Por el contrario realiza una buena segmentación de la materia blanca y gris. SIMNIBS también segmenta el cerebelo y los ventrículos, mientras que las herramientas anteriores solo segmentan el líquido cerebroespinal, la materia gris y blanca, la piel y el cráneo.

3.4. Resultados del mallado superficial

Se realizó el mallado superficial de las máscaras obtenidas con ROAST utilizando SPM12 y la plantilla *eTPM*, ya que con esa opción se obtuvieron mejores resultados. La figura 6 muestra la malla triangular del cráneo comparando los métodos de *binsurface* y *vol2surf*.

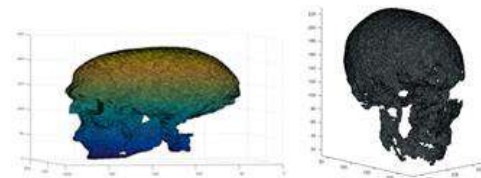


Figura 6. Comparativa de los métodos *binsurface* y *vol2surf* para el mallado superficial.

La reconstrucción del mallado del cráneo con *vol2surf* es más deficiente que con *binsurface*, tal y como se muestra en la figura 6.

3.5. Resultados del mallado volumétrico con surf2mesh

Una vez obtenidas las mallas superficiales se puede proceder a crear las mallas volumétricas. En la figura 7 se muestran los resultados de mallas volumétricas a partir de las mallas superficiales de SIMNIBS.

Cabe destacar que las segmentaciones realizadas con SPM tienen muchas intersecciones y esto impide realizar la malla de tetraedros con los tejidos segmentados mediante SPM12.

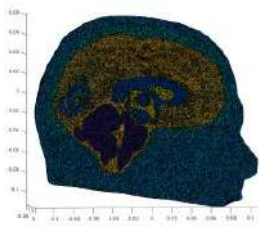


Figura 7. Malla de tetraedros a partir de los tejidos segmentados con SIMNIBS.

3.6. Resultados de la colocación de electrodos

Tras los resultados obtenidos con las herramientas *Metch* y *Mesh2EEG*, se ha realizado un código en Matlab para la colocación de los electrodos y la generación de los mismos, utilizando funciones de ambas herramientas y de *iso2mesh*. En la figura 8 se muestra un ejemplo de los resultados.

Para la colocación de las ubicaciones de los electrodos se ha utilizado la función *ComputeEEGPos* de *Mesh2EEG*, con la mejora de que los cuatro puntos de referencia se seleccionan sobre la malla superficial del sujeto y se guardan automáticamente en sus respectivas variables (Nz, Iz, T3 y T4). Además, se ha incorporado la opción de que se puedan elegir los electrodos específicos que se deseen colocar, a través de la consola. Para la reconstrucción de los electrodos, se han utilizado funciones de la herramienta *Metch*, como por ejemplo *proj2mesh* que busca la proyección normal desde un punto a la superficie, y con la función *meshacylinder* de *iso2mesh*.

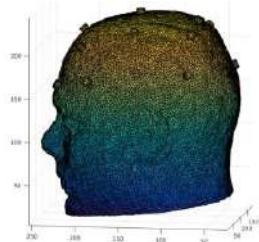


Figura 8. Colocación de electrodos con algoritmo mejorado

4. Conclusiones

Se ha comprobado la ventaja que *ROAST* tiene sobre *SPM12* al combinar las segmentaciones de T1 y T2, ofreciendo una notable mejora en la segmentación del hueso. Además, se ha descubierto la importancia de disponer una plantilla adecuada para la segmentación de las imágenes, resultando la plantilla de *ROAST* mucho mejor que la de *SPM8*. También, se ha visto que si se implementa *SPM12* en *ROAST*, en lugar de usar *SPM8*, la segmentación tiene mayor calidad, ya que *ROAST* con *SPM8* muestra en las segmentaciones algunos vóxeles aislados de los tejidos, mientras que *ROAST* con *SPM12* segmenta mucho mejor al no presentar esas imperfecciones en ninguno de los tejidos. En cuanto a la calidad de las segmentaciones, tras la comparativa de *ROAST* frente a *SIMNIBS* decir que, *SPM12* segmenta el fluido cerebroespinal y el cráneo mejor que *SIMNIBS*. La segmentación de *SPM12* del cráneo es mucho más realista

que la de *SIMNIBS*, además de segmentar hasta el cuello, ya que representa los agujeros de los ojos. Mientras que la segmentación de la materia blanca y gris realizada por *SIMNIBS* es de más calidad que las que realiza *SPM12*, además de segmentar también los ventrículos y cerebelo. La importancia de la calidad de la segmentación se hace notar en la reconstrucción del mallado triangular y volumétrico. En cuanto a los algoritmos estudiados para calcular las ubicaciones de los electrodos según un sistema internacional, se ha llegado a la conclusión de que el método utilizado por la herramienta *Mesh2EEG* es más preciso que el método que usa *Metch*.

Tras los resultados obtenidos, el flujo de trabajo realizado se compone de la segmentación realizada con *ROAST*, utilizando *SPM12* y *eTPM.nii*, del mallado superficial utilizando el método *binsurface* y de la colocación de electrodos empleando el algoritmo de *Mesh2EEG* y utilizando funciones de *Metch* e *iso2mesh* para la reconstrucción de los electrodos.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo prestado por los doctores Pablo Mir y Juan Francisco Martín (Grupo de Trastornos de Movimiento, Instituto de Biomedicina de Sevilla), por facilitar las imágenes y herramientas que han permitido la realización de este trabajo.

Referencias

- [1] Christopher W. Could Aspirin Help Prevent Alzheimer's Disease? Mouse Study Says Maybe. *Live Science's Bad Medicine Columnist*, 2018.
- [2] Yadong P, Taku H, Kenji S. Computational Modeling of Head-Eye Coordination in Face-to-Face Behavior. *IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC2017)*, Canada, 2017.
- [3] Crespo E, Alemán Y, Pascau J, Reig S, Janssen J, Desco M. Plataforma de recepción, gestión y almacenamiento de imagen médica en formato digital DICOM. *Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB2014)*, Madrid, 2014.
- [4] NIFTI-1 Data Format. <https://nifti.nimh.nih.gov/nifti-1/> (Consultada Julio 2018).
- [5] C. Rorden, MRICron home page and introduction. <http://people.cas.sc.edu/rorden/mricron/main.html> (Consultada Julio 2018).
- [6] The FIL Methods Group. SPM8 Manual. https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/doc/spm8_manual.pdf. (Consultada Junio 2018).
- [7] SPM12 Release Notes. London WC1N 3BG, UK. https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/SPM12_Release_Notes.pdf. (Consultada Julio 2018).
- [8] Saturnino G, Stelzer J, Thielscher A. SimNIBS: A versatile toolbox for simulating fields generated by transcranial brain stimulation. *Proc 21st Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (OHBM 2015)*, Honolulu, 2015.
- [9] Yu H, Abhishek D, Marom B, Lucas C. P. Realistic vOlumetric-Approach to Simulate Transcranial Electric Stimulation – ROAST – a fully automated open-source pipeline. 2017, New York.

Metodología experimental y resultados preliminares en la estimación termográfica de la fatiga operacional en operadores VTS (Vessel Traffic Service)

F. Crestelo Moreno^{1,2}, L.L. Di Stasi³, J.L. Roca González⁴, J. Suardíaz Muro², J. Roca Gonzalez²

¹ Sociedad Estatal de Salvamento Marítimo, Cartagena, España, fcrestelo@gmail.com

² Departamento Tecnología Electrónica, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España, jroca.gonzalez@upct.es

³ Centro de Investigación Mente, Cerebro y Comportamiento, Universidad de Granada, Granada, España

⁴ Departamento Ingeniería y Técnicas Aplicadas, Centro Universitario de la Defensa, Cartagena, España

Resumen

Los controladores marítimos trabajan en un entorno muy especializado y de gran responsabilidad en el cual deben adecuarse a las situaciones especiales de cada puerto para atender las necesidades del tráfico marítimo internacional.

Sumado a todo esto nos encontramos con un trabajo a turnos, nocturno, con una carga tanto mental como física. Todas estas situaciones conllevan a que los controladores acumulen fatiga y una desalineación circadiana, la cual repercute negativamente en el rendimiento, se produce una acumulación de errores, dificultades en mantener la atención, en percibir correctamente la información o a la hora de actuar con rapidez.

La Fatiga en los Controladores Marítimos podría ser una amenaza potencial para la seguridad marítima, por tanto comprender los factores que afectan la fatiga en los controladores y tomar las contramedidas necesarias es pues el Leitmotiv de este estudio.

La investigación se ha realizado en el entorno real de trabajo (CCS Cartagena) durante las guardias normales de los controladores, utilizando para ello test psicológicos orientados a determinar la fatiga (Nasa-TLX, Stanford, Borg) y grabaciones termográficas como técnica no invasiva, todo ello nos han servido para caracterizar las señales fisiológicas que determinan la aparición de la fatiga. Los resultados nos muestran como la temperatura orofacial, concretamente en la zona de la nariz sufre una tendencia pronunciada de descenso según va avanzando la jornada de trabajo, observándose como la falta de calidad del descanso, entorno y carga de trabajo afectan negativamente a la aparición de la fatiga.

1. Introducción

La fatiga ha sido un problema internacional en el transporte marítimo durante décadas. Varios estudios resaltan la importancia del componente humano como principal constituyente del núcleo de la seguridad en las operaciones de transporte, analizando cómo afecta la fatiga a la seguridad [1,2]. La mayoría de estas investigaciones sobre la fatiga en el entorno marítimo se centran en los miembros de la tripulación de un buque y otras cuestiones marítimas. Sin embargo, a pesar de todos los estudios existentes sobre el sector marítimo, existe poca investigación relacionada con la fatiga en los controladores de tráfico marítimo, destacar un estudio [3] por el cual se reconoce los factores que afectan a la aparición de la fatiga en controladores de tráfico a través de un algoritmo matemático y el desarrollo de

cuestionarios ad hoc. Otro trabajo relacionado con el tema [4] confirma el efecto decreciente de la temperatura nasal en situaciones de carga de trabajo del VTS-O, y mencionar por último una investigación [5] que caracteriza la carga mental en los operadores VTS a través de señales fisiológicas (ritmo cardiaco y movimiento ocular) y medidas subjetivas (Nasa-TLX, y diversos cuestionarios). En general, en todos estos estudios se observa como la fatiga, el sueño y las alteraciones del ritmo circadiano que aparecen con las operaciones habituales de un trabajo a turnos, pueden degradar la calidad de la ejecución de las tareas. Con este trabajo se pretende llevar a cabo el registro y análisis simultáneo de las imágenes termográficas, medidas subjetivas y señales fisiológicas, correlacionándolas con las variaciones en el tiempo de reacción de los operadores.

1.1. Servicio de Tráfico Marítimo (VTS) y Controladores Marítimos

Un puerto es una vía de entrada para que los buques ingresen o partan del mismo, el monitoreo de estos buques y la prestación de los servicios necesarios a las tripulaciones en el área del puerto son esenciales para la seguridad del transporte marítimo. Por lo tanto, los controladores de tráfico marítimo son un elemento clave en la seguridad portuaria.

Con este trasfondo se crean los Servicios de Tráfico Marítimo (VTS), los cuales son un interfaz buque-tierra implementado por las autoridades competentes de cada país para mejorar la seguridad, eficiencia del tráfico marítimo y proteger el medio ambiente marino. La figura del controlador marítimo es pues una pieza fundamental en el sistema marítimo, haciendo de la interfaz buque-tierra una unidad segura, más si cabe, teniendo en cuenta que la aproximación a puerto es una de las situaciones de mayor riesgo en la navegación, por la proximidad de la costa y el tráfico de buques en un espacio relativamente pequeño, es en esta situación donde el controlador marítimo debe velar por la arribada segura de estos buques organizando sus entradas y salidas, siendo a su

vez los encargados de coordinar la ejecución de las operaciones de búsqueda, rescate, salvamento y lucha contra la contaminación en la zona de salvamento y rescate (SAR) asignada.

En España como en otros muchos países el operador VTS o controlador marítimo (VTS-O) debe tener perfil marítimo, en contraposición con algunos estudios [5] que no le dan relevancia significativa. El número de controladores en España es de aproximadamente 300, distribuidos en 19 Centros Coordinadores de Salvamento (CCS) en la costa y un Centro Nacional de Coordinación de Salvamento (CNCS) situado en Madrid, todo ello para realizar el control de todo el litoral español y la vigilancia del aproximadamente millón y medio de km² de superficie marítima que tenemos asignada por la Organización Marítima Internacional (OMI) como zona de responsabilidad en materia de búsqueda y salvamento.

Los VTS están equipados con dispositivos de última tecnología que los controladores marítimos (VTS-O) deben conocer y aprovechar para la realización de sus tareas. Equipamientos tales como equipos radar, Automatic Identification System (AIS), información meteorológica, cartas electrónicas, que facilitan gran cantidad de detalles de los buques (rumbo, velocidad, carga, etc.), y por supuesto dispositivos de comunicaciones, son algunos de los equipos que el controlador debe manejar. Con todos estos medios el VTS-O tienen que mantener una perspectiva del entorno marítimo y si percibe algún riesgo entre buques resolver estas potenciales amenazas antes de que se transformen en un accidente. Toda esta tecnología requiere alta demanda de procesado de información por parte del controlador, el cual debe ser capaz de discernir qué información aportada por estos equipos es relevante, pudiendo llegar a lo largo del día a superar las capacidades de proceso de los operadores [6].

Los VTS-O debido a las necesidades del transporte marítimo internacional, deben mantener un sistema de turnos. Estos turnos de trabajo provocan una interrupción en los ritmos circadianos y, por lo tanto, influyen en el desempeño de su servicio [7]. Es decir, la fatiga en los controladores marítimos podría ser una amenaza potencial para la seguridad portuaria.

1.2. Termografía

La termografía es una técnica que nos permite determinar temperaturas a distancia y sin necesidad de contacto físico con la persona u objeto del estudio, esta técnica se basa en la captación de la radiación infrarroja (radiación electromagnética y térmica), utilizando cámaras térmicas específicas para este fin.

Se han publicado multitud de trabajos sobre la aplicación de la termografía en diversidad de entornos, en el campo de la medicina por ejemplo, estos estudios se presentan en dos vertientes principales, los autores que en sus trabajos utilizan la termografía como una herramienta de tratamiento, y otros, que ven su valor más como una herramienta de diagnóstico [8].

Otros estudios, más orientados a nuestros objetivos muestran el potencial de la termografía como técnica válida para la detección de marcadores somáticos durante la realización de tareas tanto emocionales como cognitivas [9] o estudian técnicas para medir la carga de trabajo mental mediante el uso de medidas fisiológicas mínimamente intrusivas como la termografía [10].

Hoy en día, la calidad de estos equipos ha alcanzado un nivel de desarrollo y miniaturización que hace posible su uso durante las actividades diarias, sin interferir con las mismas.

Con todo esto presente, el objetivo principal de esta investigación es el estudio de la variación de las señales fisiológicas de los controladores de tráfico marítimo a través de sensores no invasivos, aplicando el uso de la termografía para cuantificar el efecto de la fatiga.

Como objetivos parciales se proponen:

- a) La revisión del estado del arte en el entorno.
- b) El diseño de una metodología experimental para el estudio de la variación de indicadores fisiológicos de la fatiga.
- c) La creación de una base de datos con registros en condiciones de operacionales reales.
- d) La caracterización y procesamiento de las distintas señales para la obtención de modelos asociados a la fatiga.

2. Materiales

La sala de control utilizada para la grabación de imagen térmica debe cumplir con ciertos requisitos básicos. Estos son: tamaño adecuado para trabajar, donde se pueden necesitar hasta dos metros para ubicar cámara, sujeto, y el equipo de procesamiento de imágenes. Se procura mantener dicha sala en un rango de temperaturas adecuado, entre los 18°C y los 25°C.

Para el estudio se emplea una cámara FLIR E60, se trata de una cámara termográfica de enfoque manual diseñada específicamente para aplicaciones académicas e industriales, con una resolución IR de 320x240 (76.800 píxeles) a una frecuencia de 60Hz, sensibilidad térmica <math><0,05^\circ</math>, un campo de visión de 25° x 19°, y un rango de temperaturas de -20°C a +120°C con precisión de $\pm 2^\circ$ a temperatura ambiente.

Para tener una medida temporal objetiva del rendimiento y fatiga del participante, se diseña una aplicación ad hoc para el estudio "Control de Atención a la Tarea" (CAT), la cual dispara una alarma cada 15 min, el diseño del programa es minimalista, con fondo neutro sin gráficos ni detalles que pudieran distraer al participante.

Por último para obtener una medida subjetiva se utilizan diversos test de percepción de fatiga (SSS, BORG, SAM y NASA-TLX).

3. Metodología

El estudio se centra en la obtención de las temperaturas de la zona orofacial del voluntario. Las regiones de interés a estudiar son la zona de la nariz (Nose) y la frente (Fore), teniendo un punto de referencia (Base) en el ambiente (Figura 1).

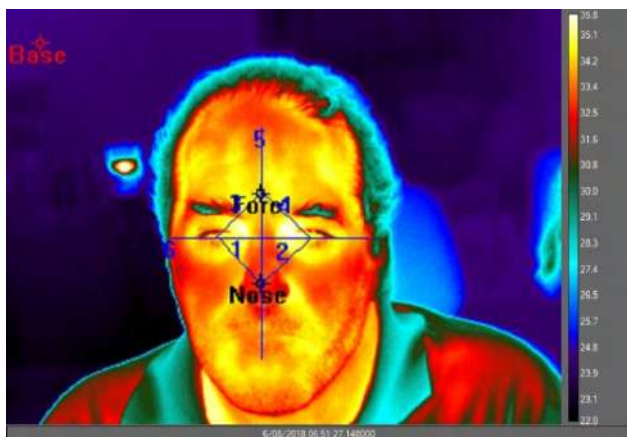


Figura 1. Regiones de interés (ROIs)

Los puntos a analizar se obtienen por geometría a partir de estructuras anatómicas de referencia, estas son la línea que une las comisuras laterales de cada ojo, y la perpendicular a esta que tiene como referencia el ápex nasal. El punto de la frente se obtiene por simetría con respecto a las líneas que unen las comisuras oculares. Todos estos puntos de medida tienen un ancho de 3x3 píxeles obteniéndose la temperatura media en dicho área. El estudio se realiza en dos de los diecinueve Centros de Coordinación de Salvamento, pudiendo en un futuro ser replicado en el resto de centros. El primero de estos centros está situado en Cartagena y el segundo en Gijón. Se escogen dichos centros por sus características únicas y antagónicas, tanto geográficas (situado a 1000 km. uno de otro), como condiciones climáticas, carga de trabajo, número de emergencias o años de experiencia del operador.

La cámara se sitúa a una distancia de 140 cm del suelo y entre 60-100 cm de los participantes. La altura fue manipulada para encuadrar solo la cara, siendo la zona orofacial el objetivo del estudio. Se utiliza el enfoque manual de la cámara. Para la captura de señal, se utiliza el programa FLIR ResearchIR en su versión para Windows. Para el análisis de las señales se emplea el programa ThermoCAM Researcher 2.10, se trata de un software que permite análisis a posteriori de las imágenes con diversos parámetros.

La organización de las guardias en ambos centros es similar, comenzando la jornada con la guardia de tarde, prosiguiendo al día siguiente con la guardia de mañana y finalizando el tercer día con la guardia de noche, pudiendo los controladores juntar guardias hasta un máximo de quince seguidas, correspondiendo por tanto otros quince días de descanso. Tanto el Centro de Control de Cartagena como el de Gijón tienen dos controladores por guardia, haciendo un total de 14 controladores para

cubrir 24/7/365, cada uno atendiendo a la guardia asignada, la cual puede ser control del tráfico marítimo o salvamento marítimo.

El puesto de trabajo es una zona de múltiple pantalla, con visualización radar y comunicaciones VHF.

La población de estudio para este proyecto son 23 controladores en activo, pertenecientes a los centros mencionados anteriormente, el estudio se realiza en entorno real, mientras el sujeto realiza su jornada de trabajo.

El rango de participantes es muy variado, tanto en edad $42 \pm 9,6$ años, como en experiencia en el puesto de trabajo, siendo los controladores de Gijón los de mayor experiencia. Los voluntarios reclutados son de ambos géneros y el estudio se realiza en los diversos turnos de guardia de cada operador: tarde, mañana y noche.

El estudio comienza con una evaluación del voluntario, al comienzo del mismo, se le explica el procedimiento de la investigación y se le proporciona una hoja de consentimiento y autorización de derecho de imágenes los cuales debe cumplimentar y firmar para continuar con la misma. Todo el material necesario se le facilitará al participante.

Cada 15 min se requerirá al voluntario que acuse la alarma del programa CAT, una vez arrancada esta aplicación se activará un contador (no visible en pantalla) el cual al llegar al tiempo programado dispara una alarma, el programa contabiliza (visible en pantalla) el tiempo de reacción al acuse de la alarma y genera un archivo de texto con este dato.

A tenor del objeto de la presente propuesta, los candidatos deberán además completar encuestas en la que figuren además de sus datos personales y profesionales, una sección referente a su estado psicológico/fisiológico, centrada en los aspectos relacionados con la fatiga.

4. Resultados

Durante este estudio se observa cómo se produce una tendencia descendente en las temperaturas del área de la nariz en comparación con la zona de la frente la cual apenas sufre variación, permaneciendo estable a lo largo de la guardia. En la figura 2, la línea verde representa temperatura de la nariz, la roja de la frente y la morada la del punto de referencia en cada imagen capturada.

El controlador al empezar un turno de guardia comienza con temperaturas estables, según van transcurriendo las horas, aproximadamente a las 2-3 horas de guardia se observa como comienza a descender la temperatura en el ápex nasal, llegando al finalizar la jornada a tener una variación de entre 4-5 °C.

En guardias consecutivas por ejemplo tarde-mañana en las que las horas de descanso se acortan con respecto a otras guardias, se observa como el controlador comienza con unas temperaturas inferiores a cuando inicia turno, tras descanso de varios días. Este efecto es aún más marcado en controladores que juntan varias guardias

seguidas (máximo 15 guardias por mes), lo que es un indicativo claro de acumulación de fatiga.

En los controladores más veteranos no parece afectar la carga de trabajo representada por buques reportados o emergencias atendidas. Destacar el efecto de las bebidas estimulantes que producen un ascenso de temperatura en la zona de la nariz antes mencionada, llegando a recuperar valores iniciales (Figura 2 11:56).

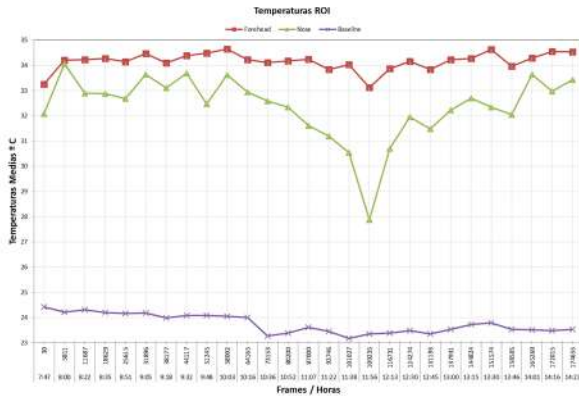


Figura 2. Gráfica de Temperaturas por regiones de interés (ROIs) para la guardia completa de un controlador.

Como se puede observar a mitad de guardia, cuando la temperatura de la nariz se encuentra en su punto más bajo, el controlador se toma por iniciativa propia un café al sentirse fatigado, a los 10 minutos se produce una subida progresiva de la temperatura de la nariz, llegando a los valores iniciales con los que se comenzó la jornada.

5. Conclusiones y futuros trabajos

En este estudio nos enfrentamos al desafío de realizar las mediciones en un entorno real, con todas las complicaciones que ello acarrearán, como por ejemplo variaciones de temperaturas, pues a pesar de ser un centro de trabajo climatizado, al coexistir varios controladores de guardia, la temperatura se ajustaba a los gustos de cada controlador. Con la premisa que el controlador realice su tarea sin interrupciones ni molestias algunas, se opta por sensores no invasivos, en este caso concreto, grabación por termografía. La posición del puesto de trabajo, al tratarse de una zona de múltiple pantalla, provoca continuos desplazamientos del controlador dificultando la obtención de capturas frontales del sujeto en el mismo ángulo de enfoque. Otra situación que se plantea, es la ingestión de bebidas estimulantes, principalmente café y refrescos de cola, cuyos efectos se observan claramente en los análisis de las grabaciones.

De los problemas antes mencionados pueden derivarse futuros trabajos como la obtención de un algoritmo de seguimiento del sujeto y reconocimiento de las regiones de interés, así de ese modo automatizar el registro de temperaturas en esa zona.

Por otro lado el efecto de las bebidas estimulantes requerirá un estudio en mayor profundidad, observándose como las temperaturas en la zona de interés de la nariz aumentan exponencialmente, lo cual es confirmado por

las gráficas de desviación en esa zona, lo cual nos habla de una posible vascularización de la zona de la nariz revitalizando el riego sanguíneo debido posiblemente no solo a la temperatura del líquido, si no probablemente a la estimulación provocada por la cafeína.

Referencias

- 1 Roca-Dorda, J., Roca-González, J., Martínez-Gonzalez, F., Guillamón-Frutos, A.: 'Fatigue', in 'Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering' John Wiley & Sons, Inc., 2006 (ISBN: 978-0-471-74036-0)
- 2 Fan, S., Yan, X., Zhang, J., Wang, J.: 'A Review on Human Factors in Maritime Transportation Using Seafarers' Physiological Data' *4th Int. Conf. Transp. Inf. Saf. (Ictis)*, Banff, AB, Canada, 2017, pp. 104–110. (ISBN: 978-1-5386-0437-3)
- 3 Ru Yen, J., Ying Wang, Y., Ching Chang, C., Yang Chang, C.: 'A structural equation analysis of vessel traffic controllers' fatigue factors' vol 8, sup 4, 2016, pp 442-455 (ISSN:1756-6517)
- 4 Murai, K., Kitamura, K., Hayashi, Y.: 'Study of A Port Coordinator's Mental Workload Based on Facial Temperature' *19th Annual Conference, KES-2015, Singapore*, 2015, vol. 60, pp. 1668–1675. (ISSN 1877-0509)
- 5 Kum, S., Furusho, M.: 'Vessel Traffic Services (VTS) and VTS Personnel: Mental Workload of VTS Operator' 2014 (ISBN: 978-3-659-58426-8)
- 6 Pretorius, A., Cilliers, P.J.: 'Development of a mental workload index: a systems approach' *Ergonomics*, vol 50, sup 9, 2007, pp. 1503–1515. (ISSN: 0014-0139)
- 7 Guo, Y., Liu, Y., Huang, X., *et al.*: 'The Effects of Shift Work on Sleeping Quality, Hypertension and Diabetes in Retired Workers', vol 8, sup 8, 2013. (ISSN: 1932-6203)
- 8 Nola, I.A., Kolanć, D.: 'Thermography in biomedicine', *57th International Symposium (ELMAR'15)*, Zadar, Croatia, 2015, pp. 17–20. (ISBN: 978-1-4673-6959-6)
- 9 Salazar-López, E., Domínguez, E., Juárez Ramos, V., *et al.*: 'The mental and subjective skin: Emotion, empathy, feelings and thermography' *Conscious. Cogn.*, vol 34, 2015, pp. 149–162. (ISSN: 10538100)
- 10 Marinescu, A.C., Sharples, S., Ritchie, A.C., Sánchez López, T., McDowell, M., Morvan, H.P.: 'Physiological Parameter Response to Variation of Mental Workload' *Hum. Factors J. Hum. Factors Ergon. Soc.*, vol 60, sup 1, 2018, pp. 31–56. (ISSN: 0018-7208, 1547-8181).

Biomecánica

Miércoles, 21 de noviembre

Clinical application of the upper limb motion analysis during wheelchair propulsion

B. Larraga-García¹, V. Lozano-Berrio², A. Gutiérrez¹, Á. Gil-Agudo², A.J. del-Ama²

¹ Departamento de Fotónica y Bioingeniería, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid. España, {blanca.larraga, a.gutierrez}@upm.es

² Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Paraplégicos, Toledo, España, {vlozanob,amgila, ajdela}@sescam.jccm.es

Abstract

Manual wheelchair propulsion results in a physical demand on the upper extremities that, due to its repetitive nature, leads to chronic pain, specially at wrist and shoulder joints. These problems are increasing because life expectancy of patients with spinal cord injury has incremented during recent years. In fact, the consequence of the long-term use of the wheelchair presents a biomechanical challenge as the upper extremities are not designed to support propulsion repetitive movements. Analyzing the manual wheelchair propulsion gesture with a biomechanical approach provides objective data on the loads and movements that the upper limb supports. Therefore, transferring this biomechanical analysis towards the clinical field through an application will help the facultatives on taking decisions. In this paper, an application which provides flexibility, all the needed information and a report with the key data of a propulsion test has been developed.

1. Introduction

The brain, together with the spinal cord, sets up the central nervous system (CNS). The spinal cord is the main pathway that transfers motor and sensory information from the brain and distributes it to the rest of the body and vice-versa.

The main challenge of this complex circuit is its dependence on the connection with the brain. Therefore, any dysfunction in this critical part, either complete or partial, creates important consequences. Although there is still a vast gap of knowledge about spinal cord injuries, important improvements have been made in the last century [1]. Most of the people who suffered from a spinal cord injury needs a wheelchair to move independently and the use of a wheelchair after a long period derives in pain, impairments and injuries in the upper extremity. This has a direct impact on the quality of living of these patients [2]. In the majority of the cases, patients only report pain when it gets severe or really painful. Movement analysis, as a biomechanical approach, has been used to estimate joint movements and loads. Estimating the upper extremity loads and movements during wheelchair propulsion may help to unveil the relationship between gesture, wheelchair used and movement intensity amongst others. Therefore, such analysis would support the determination of the origin of the pain, the improvement of the propulsion gesture, the analysis of the wheelchair configuration impact as well as the impact of the use of ultralight and lightweight wheelchairs versus the standard ones. Taking this into account, together with the fact that there is no application

developed for the clinicians to conduct such an analysis, this work is presented.

A clinical oriented application, along with an experimental protocol would enable clinicians without specific skills and technical knowledge on movement analysis, to perform a biomechanical analysis of manual wheelchair propulsion. Therefore, the objective of this paper is to develop a clinical oriented application in which a complete biomechanical analysis is embedded, guiding the clinicians through the process of performing a wheelchair propulsion test and providing them with the necessary information to accomplish the analysis as well as to generate a comprehensive report with the outcome of the analysis. Therefore, a deep and objective study could be performed in a faster and more efficient manner.

The article is organized as follows: section 2 presents an overview of a traditional mathematical approach for biomechanical inverse dynamics analysis. Section 3 shows the technologies actually used. Section 4 presents the data processing implemented for the kinematic and kinetic analysis followed by the software application developed. Section 5 shows an experimental test accomplished using the methodology described and the results of the experimental test. Finally, section 6 presents the conclusions of this work.

2. Biomechanical analysis

The anatomy of the upper limb can be represented as a kinematic chain linked by different joints [3]. The shoulder, elbow and wrist are the joints and the trunk, the upper arm, the forearm and the hand are the segments connected by those joints. It is quite complex to represent accurately the human body with a kinematic chain, but a good approximation could be made in order to understand the physiological and biomechanical functions of each component. This approach will help to select the most suitable number of the degrees of freedom as it is key to find a compromise between precision and outcome pursued.

For implementation, different joints of the upper limb are analyzed: the wrist, the elbow and the shoulder.

2.1. Kinematic analysis

Kinematics describe movements of the body through space and time, including displacements and therefore velocities and accelerations but with no references to forces or moments involved in the movements. There are several methods to perform a kinematic analysis and the choice of

the method depends on the problem to solve and the means available to develop a solution.

In this case, in which the upper extremity will be analyzed, the inverse kinematics method is used to obtain information of the positions of the different joints [4]. This analysis consists of obtaining the joints parameters when the final position of the kinematic chain is known. Therefore, for calculating the position of the different joints knowing the final position of the arm, the Euler angles will be used [5]. This rotation description is aligned with the most used method in Biomechanics in the clinical environment as it describes the movements of the upper limb in a more realistic manner, by combining movements from different movement planes. However, this method is complex as it needs to pay attention to the order of the rotations and therefore, the order of multiplying the different matrices. For our study, the recommendations of the International Society in Biomechanics (ISB) have been followed which does not only recommend a specific sequence of rotations but also how to set the local anatomical reference systems [6].

2.2. Kinetic analysis

Kinetics describe the forces and moments that cause movement. An inverse dynamic approach is followed to estimate the forces and moments of the joints. It considers the limb and joint kinematics, the external forces and moments exerted on the limbs, and the geometric and inertial characteristics of the limbs.

Both internal and external forces need to be considered. In the case of studying the forces and moments present during wheelchair propulsion, internal forces are the ones coming from the muscle activities, joints, ligaments or friction between the different parts of the body and external forces are the ones coming from the wheels of the wheelchair (active forces) or the wind resistance (passive forces). Therefore, a variety of kinetics analysis could be done.

The following considerations are taken into account in this analysis:

- The kinematic analysis needs to be performed previously, to know the location of the components of the limbs and joints that form the kinematic chain.
- The anthropometric model that supports the modeling of the upper limb needs to be set; that is the geometric and inertial characteristics.
- A model has to be selected to make the calculations according to the study performed.

3. Technologies used

Motion capture techniques are used quite broadly nowadays thanks to the different technologies available and for a very broad field of applications. In this section the technologies used for this biomechanical analysis are described.

3.1. Kinescan system

This is a photogrammetry system provided by the IBV (Instituto de Biomecánica de Valencia) based on passive markers that are detected thanks to an infrared light which is coupled to a digital camera [7]. This technology obtains positions in space by the intersection of two or more photogramms. Reflective markers are placed on the patient's

bony landmarks to track them in 3D and obtain their positions.

Furthermore, this system allows the synchronization with the device that acquires kinetic data on the hand-handrim contact point.

3.2. Smartwheels

Smartwheels are used to acquire forces and moments of the hand-handrim contact point [8]. These wheels gather information about forces during the interaction between the hand and the ring of the wheel while propelling. Smartwheels are designed in a way that the size of the wheel is the regular size for a wheelchair and there is an instrumented ring that collects the force information thanks to the strain gauge and encoder integrated into the wheel.

The Smartwheels can be attached to any wheelchair so that the tests could be done with the wheelchair that the patient normally uses or with a different one if needed.

4. Clinical Application

The information obtained from both, the Kinescan and the Smartwheels, is processed through a custom-made software interface in which the inverse dynamic and post-processing algorithms are embedded, being transparent to the user. Different scripts are created to process all the data and the general process followed is shown in Figure 1.

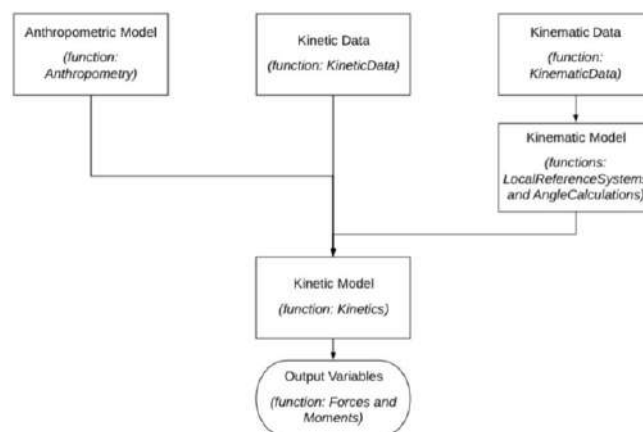


Figure 1. General approach of the process data processing

The aim of all these functions is to obtain the forces and moments in all joints taking into account the positions of the markers in different local reference systems, the anthropometry of the upper limb (see Figure 2), the Euler angle calculations and, of course, the filtering of the data obtained by both, Kinescan and Smartwheels. This data processing is the one that would feed the application to develop.

Therefore, a clinical application which allows the clinical staff to obtain all biomechanical results without the need for having a deep technical knowledge and without having to deal with any programming software has been developed. Moreover, a report functionality is incorporated into the solution based on the interaction with the processed data creating a comprehensive solution.

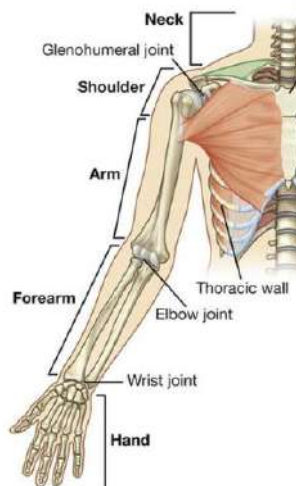


Figure 2. Upper limb structure

To start with the design of the clinical application, the indications from the clinical team of the Biomechanics and Assistive Technology Unit of the Hospital Nacional de Paraplégicos were followed. Also, similar applications such as the one used in gait analysis with the CODA system have been studied [9].

The interface created is clear, focused and supporting the user through the logic of a propulsion test. This interface is organized in four different tabs as shown in Figure 3 and the language is Spanish as it has been designed for a Spanish hospital.



Figure 3. Tabs generated for the clinical application

The first tab of the interface (“Carga de datos”, meaning “data load”) loads the data needed for the analysis and perform the calculations. It has two buttons: one to load the data from the Smartwheels and another to load the data from the Kinescan software. Once this information is gathered, a calculation option needs to be included so that the program can start running.

The interface has to call the needed information from the MATLAB scripts through .mat files to be able to show the information to the clinician. In the second, third and fourth tabs, information about the positions, forces and moments of the different joints are shown. At the beginning, each of the tabs would be empty giving the option to the user to select any or all of the joints in case this is needed. A small legend is provided to the clinicians so that they are guided in understanding the graphs. Some guidance is needed to know what the positive and negative values means and this is included in each of the them.

Figure 4 shows an example of the graphs plotted in the interface. The mean (black) and the standard deviations (red and blue) are shown in all graphs. The interface allows to zoom in and zoom out for visualizing specific details.

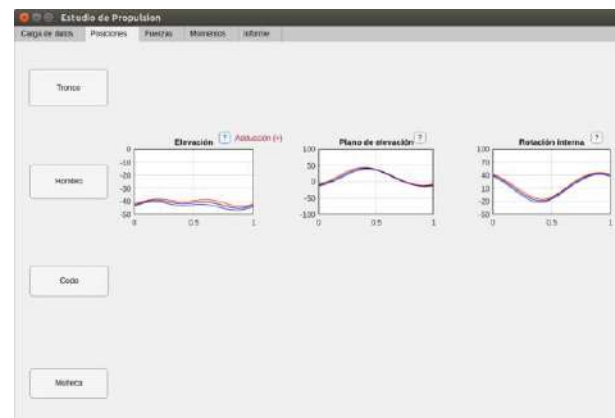


Figure 4. Positions tab with legend

In the case of forces and moments, graphs are shown for the different joints on the different axes: x, y and z axis.

The last tab includes a report generator. In this tab the clinicians would fulfill the information required for the report generation and, once the Report Generation button is clicked, a document is generated with the relevant information extracted from the graphs, as well as the graphs themselves.

Once the application was created, a validation test has been done together with clinicians at the Hospital. Personal interviews with the clinicians, a questionnaire about the tool developed as well as an experimental test were performed in order to properly validate the tool.

5. Experimental Test and Results

This experimental procedure focuses on validating the application performing a kinetic and kinematic analysis of the propulsion of two similar wheelchairs with a small difference in weight. Moreover, a protocol for the clinician which sets the steps to take in order to accomplish such an analysis is developed. This protocol provides details about how and where to locate the reflective markers, how to record and export the data for data processing and, finally, how to analyze it with the developed clinical application.

The two models of wheelchairs used to perform this experimental test are:

- Invacare Action 3: it has a seat surface of 43 cm x 40 cm (width x depth) and a weight of 13.5 kg.
- Quickie Life: it has a seat surface 43 cm x 38 cm (width x depth) and a weight of 12 kg.

The invacare model is the one available at the Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo and the quicke model has been provided by an orthopedics to perform this test.

Taking into account these characteristics, the objective was to perform a pilot study to verify that such a difference on weight of the wheelchair does not have a direct impact on the positions, forces and moments on the different joints of the arm. This pilot study has been accomplished with five able-bodied subjects that propelled both wheelchairs randomly at a speed of 3 kilometers per hour during 30 seconds in a treadmill. According to the developed program, the mean values and the standard deviations of all the positions, forces and moments are obtained as well as the values from the different cycles during wheelchair propulsion. At the end of the experimental session, an usability test is conducted in

order to gather detailed feedback of the end-users, the clinicians. To accomplish this usability test, personal interviews and a non presential questionnaire were given to get appropriate feedback.

5.1. Results

Once all the variables are obtained, a statistical analysis is done to check that no differences exist between the two models of wheelchairs previously presented. As the sample for this pilot test is limited, a Wilcoxon non-parametric test for two related samples is conducted [10] which shows no significance. Then, a boxplot is used to analyze the data obtained as seen in Figure 5. In this figure the information from the wrist position is analyzed: the first two values correspond to the alpha value (ulnar-radial deviation), the second pair of values to the beta one (internal rotation) and, finally, the last values correspond to the gamma value (flexion-extension movement) [11]. In the case of the alpha and gamma values, there is a higher difference in the mean values but the statistical analysis does not show difference due to the quartiles. This boxplot also shows that the data distribution seems symmetric except for the gamma values when using the invacare action 3 wheelchair.

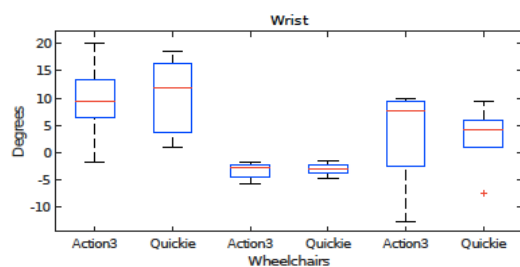


Figure 5. Wrist position analysis with both wheelchairs

This boxplot study is performed for all the joints' positions, forces and moments showing no statistical difference between the values obtained using the wheelchairs. Taking into account these results, it can be said that no difference appears by using the two wheelchairs analyzed in this pilot test and that the application developed has perfectly worked in the accomplishment of these tests, showing robustness and efficiency during the process.

From the usability test conducted, a positive feedback from the clinicians was obtained finding the tool useful. Also, improvements were suggested in order to make the application more clinically oriented such as including interactive messages in the screens and resizing the graphs given the option to the user to decide on upon this.

6. Conclusions

The main objective of this work was to transfer results from a research and development project based on the biomechanical analysis of the upper limb to a clinical application. With this transference, the clinicians could easily perform a propulsion study through a clinically-oriented, friendly application and a standard protocol that guides them through the analysis in a really fast and easy manner. To do so, a pilot study has been performed using this application. The realization of this test has been successful as well as the results. This development has been done taking into account the input from the clinicians.

This work opens the possibility to perform biomechanical studies that could support the wheelchair selection by providing objective data. Therefore, a further analysis should be done in this respect. Part of this analysis would be accomplished with the pilot study that is being performed during July 2018 using different wheelchairs with more difference in the configuration used by two group of patients: paraplegics and tetraplegics. This way, the impact on the kinematic and kinetics variables will be studied.

Acknowledgements

Acknowledgments to all the colleagues of the Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo and the Bioengineering and Photonics department of the Universidad Politécnica de Madrid who supported this work. Finally, thanks to the patients that have contributed to perform the pilot study that is currently being under performance.

References

- [1] Nógrádi, A. Transplantation of Neural Tissue into the Spinal Cord, Second Edition. Springer, Szeged, Hungary, 2006 (ISBN: 0387263551).
- [2] Cardenas, M. D. D. and Gerard, B. Upper extremity pain after spinal cord injury. *Spinal Cord*, vol 37, sup 3, 1999, pp 1-23 (ISSN: 1362-4393).
- [3] Hingtgen, B., McGuire, J. R., Wang, M., and Harris, G. F. An upper extremity kinematic model for evaluation of hemiparetic stroke. *Journal of Biomechanics*, vol 39, sup 4, 2006, pp 681-688 (ISSN: 0021-9290).
- [4] Tolani, D., Goswami, A., and Badler, N. I. Real-time inverse kinematics techniques for anthropomorphic limbs. *Graphical Models*, vol 62, sup 5, 2000, pp 353-388 (ISSN: 1524-0703).
- [5] Wu, G., Van Der Helm, F. C., Veeger, H. E., Makhsous, M., Van Roy, P., Anglin, C., Nagels, J., Karduna, A. R., McQuade, K., Wang, X., Werner, F. W., and Buchholz, B. Isb recommendation on definitions of joint coordinate systems of various joints for the reporting of human joint motion—part ii: shoulder, elbow, wrist and hand. *Journal of Biomechanics*, vol 38, sup 5, 2005, pp 981-992 (ISSN: 0021-9290).
- [6] Mitchell, H. L. and Newton, I. Medical photogrammetric measurement: Overview and prospects. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, vol 56, sup 5, 2002, pp 286-294 (ISSN: 0924-2716).
- [7] Instituto de Biomecánica de Valencia. Kinescan/ibv v2014. <http:// analisisbiomecanico.ibv.org/productos/tecnicas-de-registro/kinescan-ibv.html>. [Online; accessed 2018-06-10].
- [8] University of Pittsburgh. Smartwheel — human engineering research laboratories — university of pittsburgh. <http://www.herl.pitt.edu/smartwheel>. [Online; accessed 2018-06-28].
- [9] Codamotion. Movement analysis for clinical services - codamotion. <https://codamotion.com/movement-analysis-for-clinical-services/>. [Online; accessed 2018-06-28].
- [10] Landau, S. and Everitt, B. A handbook of statistical analyses using SPSS. Chapman & Hall/CRC Press LLC, Florida, USA, 2004 (ISBN: 1584883693).
- [11] Hall, S. J. (2012). Basic Biomechanics, Sixth Edition. McGraw-Hill Companies, New York, USA, 2012 (ISBN: 978-0-07-337644-8).

Método de calibración anatómica para la alineación de unidades de medida inercial con los ejes anatómicos de la extremidad superior

E. Aragón-Basanta^{1,2}, J.M. Belda-Lois^{1,3}, A. J. del-Ama²

¹Instituto de Biomecánica de Valencia, Universitat Politècnica de València, España, mearba@upv.es

²Unidad de Biomecánica, Hospital Nacional de Paraplégicos, Toledo, España, ajdela@sescam.jccm.es

³Grupo de Tecnología Sanitaria del IBV, CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN) Valencia, España, juanma.belda@ibv.org

Resumen

Se propone un nuevo método de calibración anatómica que permite alinear sensores inerciales con los ejes principales del miembro superior. Este nuevo método se ha validado con una tecnología de referencia de fotogrametría activa (Codamotion) en un sujeto sano. Para ello, se han realizado movimientos analíticos y el movimiento del gesto de beber. Así mismo, se ha evaluado la fiabilidad intra-sujeto e inter-sujeto para conocer la repetibilidad del método de calibración y verificar su robustez frente a la variabilidad del terapeuta. El método de calibración permite alinear los sensores a los ejes anatómicos de los segmentos, y ofrece medidas válidas y robustas.

1. Introducción

Una de las consecuencias de la lesión medular es la afectación de la capacidad motora y sensitiva [1]. Las técnicas de análisis y evaluación del movimiento son fundamentales para la ayuda al diagnóstico, la evaluación de tratamiento o la prescripción de ayudas técnicas. Una de ellas sería los sistemas de medida basados en sensores inerciales (Unidades de Medida Inercial, UMI) [2]. Estos sensores proporcionan la orientación en un sistema de referencia inercial formado por la gravedad y el norte magnético. La medición de la cinemática articular requiere alinear las UMI con los ejes funcionales de los segmentos adyacentes a la articulación. Este proceso de alineación se conoce en la literatura como “calibración anatómica”. Estos métodos pretenden conocer el error asociado a la medición del movimiento con sensores colocados en los segmentos corporales, para a continuación minimizarlo. En el caso particular de las UMIs, el error asociado a su colocación en los segmentos es un error de orientación producido entre la orientación del sensor y los ejes fisiológicos de movimiento. Por ello, es muy importante conocer la relación entre los ejes del segmento del sensor con el fin de obtener medidas fiables y para ello, es necesario realizar una calibración anatómica.

2. Estado del arte

La calibración “sensor-segmento corporal” puede hacerse de varias formas diferentes [3]: La primera sería colocar meticulosamente el sensor en el segmento, intentando alinear los ejes de este con los ejes del segmento, conocidos por ciertos puntos anatómicos. Es decir, consiste en asumir que los ejes del UMI coinciden completamente con los ejes

del segmento. Este método es poco utilizado y apenas nombrado en la literatura por la escasa precisión que ofrece. Un segundo enfoque es pedir al paciente que esté en una posición estática establecida. Por tanto, los segmentos corporales se asumen alineados y de esta forma podría obtenerse la relación entre los ejes del segmento y del UMI [5,7]. Otro método de calibración consiste en pedir al sujeto que realice una serie de movimientos funcionales específicos para obtener los ejes del segmento [4-9]. Por último, otros autores ubican los UMIs y a su vez marcadores en ciertos puntos de estos segmentos, para conocer la posición exacta del sensor. Por otro lado, se han encontrado otros trabajos que utilizan un método de calibración basado en la mezcla de alguno de los anteriores [4,5].

En cuanto a métodos específicos para la calibración anatómica del miembro superior, Luinge et al. [4] miden el vector de la gravedad y las velocidades de rotación de dos movimientos del brazo y el antebrazo para obtener los ejes anatómicos para la valoración del codo. Sin embargo, obtiene valores altos de error.

Cuti et al. [5] proponen un planteamiento similar al anterior para codo y hombro. Es el que mejores valores de precisión proporciona de entre los revisados, cercano a 3º en comparación a un sistema optoelectrónico, aunque no especifican los valores para cada uno de los movimientos de una articulación. Requiere únicamente la realización de dos movimientos sencillos para un terapeuta, y una posición estática, para medir la gravedad del sensor del tórax.

El método de Vries et al. [6], también con un planteamiento similar, necesita 8 movimientos para la calibración. Las articulaciones que analiza son la de muñeca, codo y hombro. Calcula la desviación de los ejes obtenidos en la calibración en comparación a la que se obtendría con un sistema optoelectrónico. Para el caso del tórax y brazo puede ser aceptable, pero no tanto para el antebrazo o mano, que tienen valores medios de hasta 17º. La información proporcionada por estos investigadores puede ser muy útil para saber qué movimientos se deben elegir para obtener menor variabilidad entre sujetos.

El método 1 propuesto por Galinski y Dehez [7] requiere dos movimientos y una posición estática para la calibración de la muñeca, codo y hombro. Esta posición estática no tiene por qué ser la posición neutra, sino una en la que se conozcan los ángulos que forman los segmentos. Proporcionan los valores de RMSE para cada uno de los ángulos, tomando como referencia los *encoders* de un brazo robótico. No solo los valores de la mediana de estos errores son mayores que los obtenidos por Cutti et al.[5] sino que además la dispersión es mayor. Sin embargo, hasta cierto punto pueden ser estos valores comparables entre ambos investigadores. En primer lugar, porque se está usando una tecnología de referencia diferente en cada caso. Por otro lado, los sensores utilizados por ambos investigadores son distintos.

El método 2 propuesto por Galinski y Dehez [7] no requiere ningún movimiento por parte del paciente, sino dos posiciones estáticas. Los errores que se obtienen con este método son mayores que los obtenidos en el método anterior. Esto es debido, entre otras razones, a que se está haciendo la suposición de que el sensor colocado en el tronco está alineando directamente con uno de los ejes.

El método de Ricci et al. [8] para la articulación del codo y hombro requiere 8 movimientos. Por otro lado, proponen un algoritmo muy complejo, que probablemente no justifique la posible mejora que pueda obtenerse en la precisión. Además, no se proporcionan valores de error de las medidas.

Finalmente, el método propuesto Ligorio et al.[9] requiere únicamente tres movimientos y una posición estática, concretamente la posición neutra. El algoritmo no tiene demasiada complejidad, pero si más que otros métodos como el de Cutti et al. [5] obteniendo valores RMSE similares para algunos ángulos articulares. Por otro lado, este método solo es válido para el codo.

Estos métodos propuestos en algunos casos necesitan muchos movimientos o implementan algoritmos complejos que no llevan asociado un gran incremento en la precisión de los resultados. Además, no todos están centrados en todas las articulaciones del miembro superior. Por tanto, el objetivo de este trabajo es proponer un nuevo método simplificado de calibración anatómica para la medida del movimiento de la extremidad superior mediante UMIs.

3. Material y métodos

El sistema de captura de movimiento utilizado ha sido el Tech-MCS V.3.0. de *Technaid*. Como herramienta matemática de representación de la orientación se han utilizado cuaternios.

En cuanto al modelo del miembro superior utilizado, consta de segmentos rígidos con 7 grados de libertad para el conjunto de hombro, codo y muñeca. Se considera una articulación esférica con 3 grados de libertad para el

hombro, dos bisagras para el codo y una bisagra y una articulación plana para la muñeca.

La colocación de los sensores se ha definido con el objeto de minimizar, dentro de lo posible, los artefactos por tejidos blandos. Por ello, el sensor del tronco se ubicó en la parte plana del esternón, el del brazo en el punto medio entre el hombro y codo y entre el bíceps y tríceps. Para el antebrazo encima de la apófisis estiloides, más sobre el borde radial. En cuanto al sensor de la mano, entre el segundo y tercer metacarpiano.

3.1. Método de calibración propuesto

El método propuesto está basado en el de Galinski y Dehez [7] y requiere los siguientes movimientos y posiciones.

PASO 1. Posición estática con brazo, antebrazo y mano alineados en la posición neutra. Puesto que se trata de pacientes que están en silla de ruedas, el brazo estará ligeramente abducido respecto del tronco. Se medirá la orientación de los sensores del brazo, antebrazo y mano.

PASO 2. Posición estática con el brazo y tronco alineado. Se quiere que el brazo y tronco estén lo más perfectamente alineados posible, no siendo importante la posición en la que estén el antebrazo y mano. Se medirá la orientación del sensor del brazo y tronco.

PASO 3. Movimiento de rotación interna/externa del húmero. Se realizarán 5 repeticiones evitando los ángulos extremos, teniendo un rango de movimiento aproximadamente de 80°. Se medirá la velocidad angular del movimiento. Con este movimiento se quiere obtener el eje longitudinal del brazo.

PASO 4. Movimiento de flexión/extensión del hombro. Se realizarán 5 repeticiones evitando los ángulos extremos. Por tanto, el rango total del movimiento estará por debajo de 70°. Se medirá la velocidad angular del movimiento. Se quiere obtener el eje del brazo alrededor del cual se produce la flexión.

Con todo esto, en primer lugar, lo que se hace es obtener el cuaternio de calibración del brazo a partir de dos movimientos puros que el terapeuta realiza sobre el paciente. De forma más detallada, del movimiento de rotación del brazo se mide la velocidad angular y mediante la descomposición en valores singulares se obtiene el eje x_B . Del movimiento de flexión se realiza lo mismo que para el anterior movimiento obteniendo en este caso z_B^* . Este vector se ha denominado con un * porque se recalculará posteriormente para asegurar que los tres vectores son perpendiculares. El tercer eje se obtendría por producto vectorial de los dos anteriores: $y_B = z_B^* \times x_B$. Para asegurar la perpendicularidad entre los ejes, se recalcula el eje z , por lo que: $z_B = x_B \times y_B$. Con esto se construye la matriz de rotación $R_B = [x_B^t \ y_B^t \ z_B^t]$ y se obtiene el cuaternio q_{B_calib} por el que habría que multiplicar las medidas del sensor para alinearlos con los ejes del brazo.

Los demás cuaternios de calibración se obtienen a partir de los registros de las posiciones estáticas. En la posición estática del paso 1, se obtienen los cuaternios que dan la orientación de estos sensores. Con estos, se obtienen los

cuaternios de calibración del antebrazo y mano, ya que se sabe el ángulo relativo que forman los segmentos en esta posición estática. Llamando q_{B_pose1} , q_{A_pose1} y q_{M_pose1} a los cuaternios medidos en la posición estática para el brazo, antebrazo y mano respectivamente, el cuaternio que relaciona el antebrazo con el brazo durante esta posición estática sería:

$$q_{b-a_pose} = (q_{B_pose}^* \otimes q_{A_pose})$$

Y para la muñeca, se relaciona esta con el antebrazo:

$$q_{a-m_pose} = (q_{A_pose}^* \otimes q_{M_pose})$$

Posteriormente se obtiene el cuaternio de calibración del antebrazo y mano.

$$q_{A_calib} = (q_{b-a_pose}^* \otimes q_{B_calib})$$

$$q_{M_calib} = (q_{a-m_pose}^* \otimes q_{A_calib})$$

Para la posición 2 se realiza lo mismo que para la posición 1, pero en este caso lo que se quiere obtener es el cuaternio de calibración del tronco:

$$q_{t-b_pose} = (q_{T_pose}^* \otimes q_{B_pose})$$

Y el cuaternio de calibración del tronco:

$$q_{T_calib} = (q_{t-b_pose} \otimes q_{B_calib})$$

Los subíndices T , B , A , M empleados corresponden a tronco, brazo, antebrazo y mano respectivamente.

Con todo esto, se obtiene el cuaternio que relaciona segmentos contiguos a partir de los cuales se obtendrán los ángulos articulares. De forma general, denominando p al segmento proximal y d al distal, el cuaternio que los relaciona se obtiene como:

$$q_{pd} = q_{p_calib}^* \otimes q_p^* \otimes q_d \otimes q_{d_calib}$$

Para el cálculo de los ángulos se ha seguido la secuencia de rotación recomendada por la ISB [10] para el caso del codo, pero para el hombro resulta más intuitiva utilizar también la secuencia X-Y-Z. Por tanto, para las tres articulaciones se ha utilizado esta secuencia de rotación.

3.2. Ensayos de veracidad de la medida

En primer lugar, se ha realizado un ensayo para comprobar si el método de calibración propuesto para los UMIs da resultados similares a los de una tecnología de referencia. Se ha elegido el *Codamotion* que es un sistema de fotogrametría activa. Para ello, se ha instrumentado a un sujeto sano con todos los marcadores y UMIs necesarios. Se ha pedido que se realizasen todos los movimientos de calibración necesarios en la calibración de los UMIs. Posteriormente se han realizado una serie de movimientos analíticos para poder comparar los resultados del *Codamotion* con los de los UMIs. Estos movimientos analíticos corresponden a abducción/aducción del hombro, flexión/extension del hombro, flexión/extension del codo y flexión dorsal/palmar. Así mismo, también se ha pedido al sujeto que realizase un movimiento más complejo como es el de la actividad de beber. De todos estos movimientos se han realizado dos repeticiones.

Los UMIs se han colocado totalmente desalineados con los ejes de los segmentos para analizar más aún la capacidad del método de calibración de alinear estos sensores a los ejes funcionales del segmento.

3.3. Ensayos de fiabilidad intra-sujeto

Se analizará en qué medida los movimientos de calibración realizados por el mismo terapeuta sobre el mismo sujeto dan los mismos resultados. Para ello, se instrumenta a un sujeto sano y se realizan los movimientos y poses requeridos por la calibración. Se realizan 5 calibraciones por ese mismo terapeuta, sin mover los sensores. Después de realizar todas las repeticiones de calibración el sujeto realiza el movimiento de beber de forma libre y se analizan los resultados procedentes de las distintas calibraciones realizadas por el terapeuta sobre ese movimiento.

3.4. Ensayos de fiabilidad inter-sujeto

Por inter-observador se refiere a inter-terapeuta. Esta validación consiste en analizar en qué medida los movimientos de calibración, realizados por varios terapeutas distintos sobre el mismo sujeto, dan los mismos resultados. Para ello se instrumenta a un sujeto sano y 5 terapeutas diferentes realizan la calibración. Sin quitar los sensores, se va repitiendo esta calibración con los demás terapeutas. Posteriormente, se realiza el movimiento de beber y se analizan los resultados después de aplicar la calibración realizada por cada terapeuta.

4. Resultados

En primer lugar, de la veracidad de la medida, se ha calculado el error cuadrático medio del error, tomando como referencia las medidas del *Codamotion* (Figura 1).

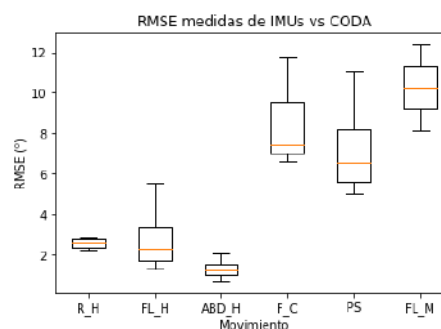


Figura 1. Gráfico de cajas del RMSE para cada grado de libertad de la validación con el *Codamotion*. *R_H*: rotación del hombro. *FL_H*: flexión/extension del hombro, *ABD_H*: abducción/aducción del hombro. *F_C*: flexión/extension del codo. *PS*: pronación/supinación antebrazo. *FL_M*: flexión dorsal/palmar de muñeca

En cuanto a los resultados de la fiabilidad intra-sujeto e inter-sujeto se muestran solo las gráficas para la articulación del codo (Figura 2).

Como medida del error se ha calculado el RMS de la desviación estándar (SD) para cada grado de libertad de cada articulación, obteniendo los valores mostrados en la Tabla 1.

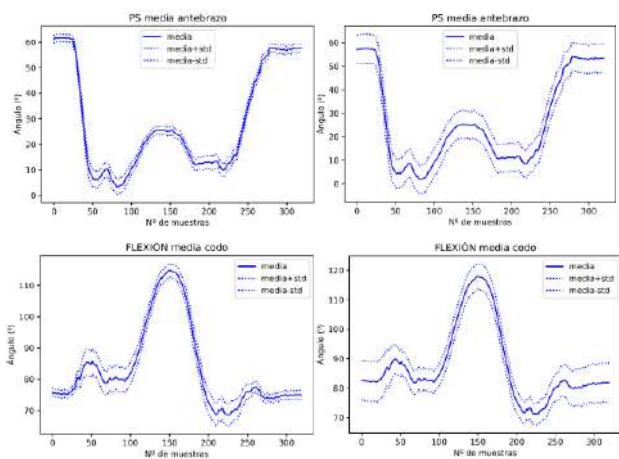


Figura 2. Resultados de media y SD de los experimentos intra-sujeto (izquierda) e inter-sujeto (derecha) para la articulación del codo durante el movimiento de beber

Movimiento	RMS de SD intra-sujeto (°)	RMS de SD inter-sujeto (°)
Rotación húmero	1,9	5,1
ABD/AD hombro	1,2	4,8
Flexión hombro	2,4	3,9
PS antebrazo	2,2	6
Flexión codo	2,8	4,9
Flexión dorsal/palmar	1,6	4,2
Desv. Radial/cubital	0,9	3,5

Tabla 1. RMS de la SD de los resultados de la validación intra-sujeto e inter-sujeto para el movimiento del gesto de beber

5. Discusión y conclusiones

Comenzando con la veracidad de la medida, se han comparado las medidas de los UMIs con una tecnología de referencia (Codamotion). Se ha calculado el error cuadrático medio (RMSE) de las medidas. Se puede observar como para el hombro estos errores son pequeños, siendo mayores para el codo. En cuanto a la muñeca, los errores son ligeramente superiores a los del codo. Sin embargo, no deben tomarse de forma estricta, ya que los resultados de la tecnología de referencia para esta articulación no son del todo precisos, debido al modelo de muñeca que tienen implementado. Más concretamente, para el movimiento analítico de abducción del hombro, donde no se producía ningún movimiento de flexión dorsal o palmar, se obtiene un rango de movimiento de la muñeca con la tecnología de referencia del orden de 30°, sí que obteniendo un valor constante para el caso de los UMIs.

En cuanto a la fiabilidad intra-sujeto donde un mismo terapeuta realiza sucesivas calibraciones, las gráficas son muy similares entre sí, con una desviación pequeña. El RMS de la desviación típica para cada movimiento toma valores pequeños, siendo el mayor en la flexión del codo.

De la fiabilidad inter-sujeto estos tienen mayor variabilidad que para el caso de la intra-sujeto. Esto indica que los resultados de la calibración dependen de la pericia con la

que el terapeuta realice los movimientos. De los valores de RMS de la desviación típica, el movimiento de pronación/supinación del antebrazo es el que tiene mayor valor toma, siendo coherente con los resultados obtenidos por otros investigadores.

Por tanto, con todo esto, la metodología de calibración propuesta para el miembro superior es robusta, permitiendo alinear los UMIs con los ejes funcionales del segmento, aun habiendo colocado los sensores completamente desalineados. Además, los UMIs proporcionan unos resultados muy similares a los de un sistema de fotogrametría activa. Por último, la metodología y el procedimiento de cálculo desarrollados son robustos frente a la variabilidad debida al terapeuta.

Referencias

- [1] A. E. Chiodo, W. M. Scelza, S. C. Kirshblum, L. A. Wurmser, C. H. Ho, and M. M. Priebe, “Spinal Cord Injury Medicine. 5. Long-Term Medical Issues and Health Maintenance,” *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 88, no. 3 SUPPL.1, pp. 76–83, 2007.
- [2] P. Picerno, “25 years of lower limb joint kinematics by using inertial and magnetic sensors: A review of methodological approaches,” *Gait Posture*, vol. 51, pp. 239–246, 2017.
- [3] B. Bouvier, S. Duprey, L. Claudon, R. Dumas, and A. Savescu, “Upper limb kinematics using inertial and magnetic sensors: Comparison of sensor-to-segment calibrations,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 15, no. 8, pp. 18813–18833, 2015.
- [4] H. J. Luinge, P. H. Veltink, and C. T. M. Baten, “Ambulatory measurement of arm orientation,” *J. Biomech.*, vol. 40, no. 1, pp. 78–85, 2007.
- [5] A. G. Cutti, A. Giovanardi, L. Rocchi, A. Davalli, and R. Sacchetti, “Ambulatory measurement of shoulder and elbow kinematics through inertial and magnetic sensors,” *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 46, no. 2, pp. 169–178, 2008.
- [6] W. H. K. de Vries, H. E. J. Veeger, A. G. Cutti, C. Baten, and F. C. T. van der Helm, “Functionally interpretable local coordinate systems for the upper extremity using inertial & magnetic measurement systems,” *J. Biomech.*, vol. 43, no. 10, pp. 1983–1988, 2010.
- [7] D. Galinski and B. Dehez, “Evaluation of initialization procedures for estimating upper limb kinematics with MARG sensors,” *Proc. IEEE RAS EMBS Int. Conf. Biomed. Robot. Biomechatronics*, no. 1, pp. 1801–1806, 2012.
- [8] L. Ricci *et al.*, “A new calibration methodology for thorax and upper limbs motion capture in children using magneto and inertial sensors,” *Sensors (Switzerland)*, 2014.
- [9] G. Ligorio, D. Zanotto, A. M. Sabatini, and S. K. Agrawal, “A novel functional calibration method for real-time elbow joint angles estimation with magnetic-inertial sensors,” *J. Biomech.*, 2017.
- [10] G. Wu *et al.*, “ISB recommendation on definitions of joint coordinate systems of various joints for the reporting of human joint motion - Part II: Shoulder, elbow, wrist and hand,” *J. Biomech.*, vol. 38, no. 5, pp. 981–992, 2005.

Instrumentación

Miércoles, 21 de noviembre

Dispositivo de Interacción y Monitorización basado en Unidad de Medición Inercial en entornos de Realidad Virtual para Rehabilitación de la Extremidad Superior

J. Ontiveros-Ravell¹, A. Vázquez¹, P. Sánchez-González^{1,2}, E. Opisso³, J. López³, I. Soriano³, J.M. Tormos³, E.J. Gómez^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {jontiveros, avazquez, psanchez, egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

³ Institut Guttmann, Institut Universitari de Neurorehabilitació adscrit a la UAB, Badalona, Barcelona, España, {eopisso, jaumelopez, isoriano, jmtormos}@guttman.com

Resumen

Las tecnologías de realidad virtual siguen siendo de gran interés en el área de neurorehabilitación especialmente aquellas que permiten un alto grado de inmersión de los usuarios. Sin embargo, los dispositivos comerciales no permiten a personas con dificultades motoras aprovechar el beneficio de estas tecnologías como herramientas de rehabilitación. El objetivo del presente trabajo se ha centrado en utilizar un dispositivo que fuera lo suficientemente sencillo y de bajo coste para permitir una interacción eficiente. Para el desarrollo se ha utilizado una Unidad de Medición Inercial que permite a pacientes con daño severo en la extremidad superior interactuar con el entorno de rehabilitación de realidad virtual. Como resultado del trabajo se ha realizado una prueba técnica con usuarios sanos para comprobar la fiabilidad y funcionalidad del dispositivo.

1. Introducción

De acuerdo al informe realizado por la FEDACE con la colaboración del Real Patronato sobre la Discapacidad durante el año 2015; en España viven 420.000 personas con Daño Cerebral Adquirido (DCA) [1]. El 78% de los casos tuvieron su origen en un ictus y el 22% restante en Traumatismos Craneoencefálicos (TCE). Cada año se dan 104.071 nuevos casos, de los cuales 99.284 son provocados por accidentes cerebrovasculares [1]. Tras el alta hospitalaria se debe comenzar un proceso de rehabilitación enfocado en alcanzar la mayor autonomía posible. Se ha observado que las personas con acceso a programas de rehabilitación intensivos, muestran una recuperación más rápida, lo que se refleja en estancias hospitalarias más cortas [2].

Los procesos de rehabilitación suelen ser en muchos casos repetitivos, lo que hace que los pacientes se frustren y aburran de los ejercicios de rehabilitación [3]. La posibilidad de emplear soluciones tecnológicas ha ayudado a mejorar los procedimientos de rehabilitación, a la vez que agregan el factor lúdico en el proceso. Por otra parte, se ha observado que los sistemas configurables y programables pueden motivar y alentar a los pacientes a realizar su rehabilitación de forma intensiva, mejorando la manera en

que se involucran y se sumergen en su proceso de rehabilitación [4]. En la literatura, se pueden encontrar diferentes formas de abordar la rehabilitación de la extremidad superior utilizando soluciones tecnológicas basadas en entornos virtuales, capturas de movimiento mediante cámaras y capturas de movimiento utilizando sensores de movimiento inerciales [5-6-7].

Las tecnologías basadas en realidad virtual (RV) actualmente ofrecen sistemas de inmersión completa, lo que ha supuesto un cambio en cómo se interactúa con los entornos virtuales que solo ofrecen una experiencia a través de un monitor sin visión estereoscópica. Los beneficios de esta tecnología se pueden ver en diferentes campos de aplicación como pueden ser el entrenamiento militar para control de la ansiedad, la rehabilitación psicológica y más recientemente la rehabilitación de pacientes con DCA [8]. Actualmente, existen cuatro formas de implementar entornos de RV [9]: *Head Mounted Display* (HMD) RV, realidad aumentada, *Tank fish* RV (instalación en habitación) y la basada en proyecciones. De todas ellas, la que supone un mayor grado de inmersión es la HMD ya que proporciona al usuario una inmersión completa. Esto permite crear entornos que simulen el movimiento de la extremidad afectada lo que ayuda a los pacientes a conseguir una retroalimentación positiva que les anima a la vez que crea una adherencia al sistema lo que puede mejorar su compromiso con su proceso de recuperación [10].

Hasta hace unos años utilizar sistemas HMD suponía un gran coste de desarrollo, lo que lo hacía poco accesible, pero a partir de 2016, con el lanzamiento comercial de sistemas RV como el HTC Vive (HTC, Taiwán) y Oculus (Oculus VR, USA), esta tecnología se ha vuelto viable para su utilización e investigación en diferentes campos profesionales. El uso de dispositivos comerciales, tienen como ventajas la aceptación masiva que ofrecen, la facilidad de desarrollo y costes accesibles. Pero hay que tener en cuenta que estos dispositivos no han sido específicamente diseñados para su uso terapéutico por lo

que es necesario realizar modificaciones o adaptaciones para que puedan ser herramientas útiles en el campo de rehabilitación [11].

El presente trabajo se enfoca en la adaptación de un sistema de RV para su uso en rehabilitación. El dispositivo de integración se encuentra basado en una Unidad de Medición Inercial (IMU) que permitirá obtener la información necesaria para interactuar con los entornos de RV a la vez que se mantiene un sistema de bajo coste. Esto posibilita la creación de procedimientos de rehabilitación que aprovechen los beneficios de las nuevas tecnologías alcanzando una rehabilitación personalizada, monitorizada, intensiva y natural para los pacientes con DCA.

2. Materiales y Métodos

El diseño y desarrollo del dispositivo de interacción ha sido realizado gracias al trabajo interdisciplinar con el Hospital Institut Guttmann donde se identificaron las necesidades de los pacientes que utilizarán el sistema de RV, para la identificación de estas necesidades el grupo de trabajo se ha reunido con los terapeutas para evaluar de forma directa como es la interacción actual que los pacientes pueden realizar con el sistema que se encuentra en funcionamiento en las instalaciones del hospital. De esta observación se ha podido determinar que el mayor problema en el sistema es la dificultad de interacción que presentan los pacientes al no poder realizar movimiento fino de los dedos.

El sistema se encuentra dividido en dos partes por un lado está el entorno de RV el cual muestra en visión estereoscópica el entorno generado por computadora a los usuarios y por otro lado está el dispositivo de interacción. El presente trabajo se centra principalmente en el desarrollo del dispositivo de interacción.

2.1. Entorno de Realidad Virtual

El objetivo principal del trabajo es permitir a los pacientes con dificultades motoras en la extremidad superior, la utilización de terapias con RV, para que puedan beneficiarse de esta tecnología. Para conseguir este objetivo se ha desarrollado un entorno de RV que simula mediante inmersión completa, actividades de la vida diaria en una cocina (Figura 1). La interacción con el entorno incluye diferentes acciones como, abrir y cerrar cajones, coger elementos como cucharas, vasos u otros objetos, y realizar diferentes acciones que comúnmente se realizan en el entorno real.



Figura 1. Entorno de Realidad Virtual Cocina

Por lo tanto, se requiere el seguimiento del movimiento para acercarse o alejarse de los objetos virtuales y un método para activar las acciones de sujeción sobre los objetos virtuales con los que se va a interactuar. Los problemas motores de los pacientes suelen afectar la posición de la mano y el movimiento de los dedos, siendo estas las razones principales de que no puedan utilizar los mandos comerciales (Figura 2), con los cuales se ofrece el sistema de RV. Es por ello, que se plantea resolver la interacción mediante el uso de dos herramientas: Un tracker HTC y un sensor IMU.



Figura 2. Mando Comercial HTC

El tracker de la marca HTC elimina la necesidad del mando comercial del sistema de RV consiguiendo con este sensor el tracking de la extremidad superior en el espacio 3D (Figura 3).



Figura 3. Tracker HTC Vive para seguimiento del movimiento de la extremidad superior

Al sustituir el mando comercial con el tracker de HTC se consigue realizar el seguimiento adecuado de la extremidad superior del usuario enviando la posición dentro del volumen de acción que corresponde al espacio en donde el usuario se puede mover dentro de la habitación, sin embargo, el sensor carece de un *trigger* para activar las acciones de interacción en el entorno de RV. Para ello un segundo dispositivo es necesario para generar las interacciones.

Para la activación de las interacciones se integró un IMU para monitorizar los movimientos de flexión y extensión de la mano, como se ha mencionado anteriormente, los pacientes que utilicen el sistema pueden tener dificultad en realizar movimientos con los dedos, por lo que se ha optado por utilizar sensores inerciales que permitirán realizar la interacción mediante el movimiento de extensión o flexión de la mano del usuario. La posición de la extremidad superior en el espacio ya es conocida mediante el sensor HTC y al incluir el sensor IMU capaz de medir la orientación en los ejes X, Y, Z con lo que se puede activar las diferentes acciones que el usuario debe realizar para interactuar con el entorno de RV como el sujetar o soltar

un objeto mediante la extensión o flexión respectivamente. En el siguiente apartado se aborda este sensor.

El entorno de RV también incluye una pantalla de configuración que permite al terapeuta configurar el dispositivo IMU de una manera sencilla y transparente. Mediante este menú el terapeuta podrá ajustar el funcionamiento del dispositivo, para cada paciente, definiendo los valores máximos y mínimos de flexión/extensión de la mano para realizar la activación de las acciones (Figura 4).



Figura 4. Menú de configuración sensor inercial

2.2. Dispositivo de interacción

Los pacientes con DCA más afectados pueden presentar un alto grado de espasticidad lo que puede ocasionar que no sean capaces de mover los dedos por cuenta propia, pero posiblemente sean capaces de mover la extremidad completa. Para permitir la interacción a estos pacientes con el entorno de RV se ha utilizado una IMU. Este dispositivo permite adquirir dos variables en los tres ejes de movimiento: la aceleración y los grados de rotación.

Para el desarrollo se ha utilizado un sensor IMU MPU6050, que ha sido encapsulado en un paquete plástico para que pueda ser posicionado sobre la mano del paciente. El dispositivo cuenta con conexión inalámbrica mediante WiFi para la transmisión de datos y se alimenta mediante una batería de 3.3v Li-Po (Figura 5).

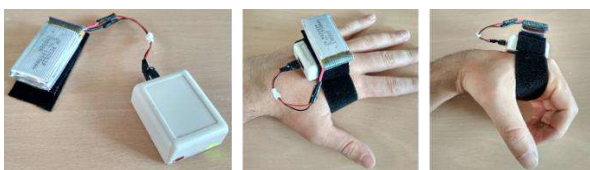


Figura 5. Prototipo dispositivo de interacción basado en IMU

EL IMU permite realizar la monitorización y medición de los movimiento de la mano del usuario para saber qué acción está intentado completar, dependiendo de los valores máximo y mínimos de flexión y extensión puede realizar una sujeción de un objeto o soltar el objeto, mediante esta configuración el dispositivo puede adaptarse a la necesidad de movimiento de cada paciente, brindando incluso la posibilidad a los terapeutas de ajustar los umbrales de activación de acuerdo a lo que consideren necesario para cada sesión.

Antes de poder usar el dispositivo para activar las acciones de interacción, se tuvieron que resolver algunas limitaciones inherentes del IMU como la acumulación de error debido a las mediciones de las señales procesadas por

el sensor y el *gimbal lock* que se define como la pérdida de grados de libertad en los ejes [12]. Por lo tanto, es necesario realizar una calibración previa antes de iniciar cada sesión para ajustar el dispositivo a las necesidades de cada usuario. Para ello se calculan las posiciones relativas de los ejes al inicio de cada sesión, estableciendo una posición inicial como medida de referencia ya que durante la configuración del dispositivo se encuentra en una posición relativa a estas mediciones. Mediante este método el error puede ser matemáticamente eliminado sin la necesidad de más procesamiento. En un enfoque simplificado se pueden ver las referencias relativas (figura 6).

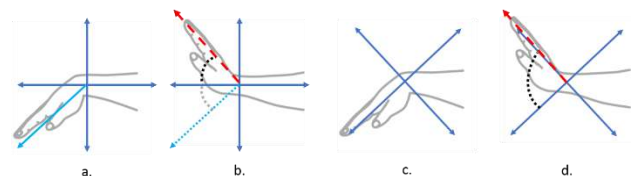


Figura 6. Grados de movimiento absoluto de la muñeca a.) y b.) y relativo (c. & d.) ejes.

Como se puede observar en la figura anterior a) muestra la posición inicial de flexión medida en un eje absoluto usando la gravedad como referencia. En la b) se puede observar el grado de flexión/extensión medidos en el eje absoluto referenciado. En la c) y d) se utiliza la definición del eje relativo desde la posición inicial. Al comienzo de la sesión los datos absolutos forman la posición inicial de la IMU y los tres ejes se utilizan para definir el nuevo marco de referencia. Extrayendo algebraicamente la posición inicial y la posición relativa de la flexión/extensión de la muñeca es posible dar la información de posición evitando las limitaciones antes mencionadas durante la utilización del IMU.

Una vez resueltos los problemas que puede presentar el IMU y realizando la calibración antes de cada sesión, el dispositivo actúa como un botón o *trigger* para generar la señal de interacción con el entorno de RV permitiendo mediante el movimiento de la mano, coger o soltar objetos dentro de la cocina. Además, toda la información recopilada durante la monitorización de la sesión es almacenada y asociada a un perfil de usuario para posteriormente poder ser analizada.

3. Resultados y Discusión

Como resultado del trabajo llevado a cabo se ha desarrollado e integrado un dispositivo de interacción que permitirá el acceso de tecnologías de RV a personas con afectaciones motoras en la extremidad superior permitiendo que puedan aprovechar los beneficios de esta tecnología en sus terapias de rehabilitación.

Se ha realizado una prueba de concepto técnica con ocho usuarios sanos para comprobar la funcionalidad del dispositivo antes de la prueba con pacientes, cada usuario contestó una encuesta de usabilidad, basada en la escala de usabilidad SUS [13]. El prototipo actual ha sido sometido a pruebas de concepto que han permitido comprobar que su funcionamiento es el correcto, incluso en posiciones extremas para garantizar que pueda ser lo suficientemente confiable al momento de monitorizar y

capturar los datos correctamente cuando se utilice con pacientes. De las pruebas y la encuesta de usabilidad con usuarios control sanos se ha observado que el uso del dispositivo ha resultado sencillo y fiable por lo que se espera un alto grado de aceptación por parte de los pacientes. Los usuarios reportaron de acuerdo a la encuesta, que el dispositivo es fácil de usar, es cómodo y se asocia correctamente a la actividad destinada. Sin embargo, es necesario comprobar las dificultades inherentes a las limitaciones motoras de los pacientes para validar la funcionalidad del sistema y de esta manera minimizar las dificultades de interacción, con el objetivo de permitir utilizar el sistema de RV de una forma natural, siendo el siguiente paso del desarrollo. Además, el dispositivo es fácil de configurar mediante la interfaz integrada del entorno de RV, lo cual se espera aumente la aceptación por parte de terapeutas para su inclusión terapéutica. Otra ventaja de utilizar el dispositivo es que, se podrá capturar datos relevantes de la sesión con cada paciente, que posteriormente podrán ser analizados. Lo más destacable del dispositivo desarrollado es su alto grado de personalización y configuración manteniendo un precio de desarrollo reducido por lo que puede ser clasificado como un dispositivo de bajo coste rondando un precio de 30 € en comparación con sensores especializados que pueden rondar los 450 €. Por lo que podemos decir que el dispositivo desarrollado es sencillo de utilizar y puede ser una herramienta útil no solo para la interacción durante el proceso de rehabilitación de personas con dificultades motoras en la extremidad superior, sino como herramienta de monitorización al realizar un registro del proceso de rehabilitación que realizan los usuarios.

Dentro de los trabajos futuros para este proyecto se tiene planeado la validación del prototipo con pacientes, además de incluir nuevas funcionalidades al entorno de RV que faciliten aún más la calibración del sensor e incluso que permita integrar posteriormente más tipos de dispositivos de interacción.

4. Conclusiones

En conclusión, el trabajo realizado ha dado como resultado el desarrollo de un dispositivo de interacción para el entorno de RV de rehabilitación que permitirá el acceso a un gran número de pacientes con problemas motores de la extremidad superior, que podrán beneficiarse de esta tecnología. De la prueba técnica podemos concluir que el dispositivo es sencillo de utilizar y altamente personalizable para el perfil de cada paciente, lo que nos llevaba a pensar que la aceptación por parte de los pacientes será muy buena, además debido a su fácil configuración mediante una interfaz integrada en el entorno RV se espera una gran aceptación por parte de los terapeutas, por lo que los resultados preliminares son alentadores.

El reto final de este trabajo es el brindar acceso a las nuevas tecnologías, a una mayor cantidad de pacientes para proporcionarles una rehabilitación más personalizada, monitorizada e intensiva.

Agradecimientos

Nuestro especial agradecimiento al departamento de investigación y de rehabilitación funcional del Hospital Institut Guttmann por su colaboración en el desarrollo de este trabajo y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT).

Referencias

- [1] Federación Española de Daño Cerebral (27/07/2018). Disponible: <https://fedace.org/dano-cerebral-adquirido.html>.
- [2] N. Hocine, A. Gouaïch, S. A. Cerri, D. Mottet, J. Froger, I. Laffont. "Adaptation in serious games for upper-limb rehabilitation: an approach to improve training outcomes." *User Modeling and User-Adapted Interaction* 25(1) (2015), 65-98.
- [3] J. W. Burke, M. D. J. McNeill, D. K. Charles, P. J. Morrow, J. H. Crosbie, S. M. McDonough. "Optimising engagement for stroke rehabilitation using serious games". *The Visual Computer*, 25(12) (2009), 1085-1099.
- [4] B.G. Witmer, M.J. Singer. "Measuring presence in virtual environments: a presence questionnaire". *Presence* 7 (1998), 225-240.
- [5] D. Jack, R. Boian, A. Merians, S. Adamovich, M. Tremaine, M. Recce, et al. "A virtual reality-based exercise program for stroke rehabilitation". *Proceedings of the 4th international ACM conference on assistive technologies*, ACM (2000).
- [6] Villán-Villán, Mailin Adriana; Pérez-Rodríguez, Rodrigo; Martín, Cristina; Sánchez-González, Patricia; Soriano, Ignasi; Opisso, Eloy; Hernando, Elena. M.; Tormos, José María; Medina, Josep & Gómez, Enque. J. "Objective motor assessment for personalized rehabilitation of upper extremity in brain injury patients". *Neurorehabilitation* 42(4) (2018), 429-439
- [7] R. Pérez, U. Costa, M. Torrent, J. Solana, E. Opisso, C. Cáceres, J.M. Tormos, J. Medina, J. Tormos Muñoz, E.J. Gómez. "Upper Limb Portable Motion Analysis System Based on Inertial Technology for Neurorehabilitation Purposes". *Sensors* 10(12) (2010), 10733-10751.
- [8] Virtual Reality Society. *Applications of Virtual Reality - Virtual Reality Society*. (27/07/2018). Disponible: <https://www.vrs.org.uk/virtual-reality-applications/>
- [9] Rizzo, Albert. "Skip, and Gerard Jounghyun Kim. "A SWOT analysis of the field of virtual reality rehabilitation and therapy." *Teleoperators & Virtual Environments* 14(2)(2005), 119-146.
- [10] Rizzo AA, Schultheis MT, Kerns K, Mateer C. "Analysis of assets for virtual reality applications in neuropsychology". *Neuropsych Rehab* (2004), 207-239.
- [11] P. J. Standen, K. Threapleton, L. Connell, A. Richardson, D. J. Brown, S. Battersby, F. Platts. "Patients' use of a home-based virtual reality system to provide rehabilitation of the upper limb following stroke". *Physical therapy* 95(3) (2015), 350-359.
- [12] Brezov, Danail S., Clementina D. Mladenova, and Ivailo M. Mladenov. "New perspective on the gimbal lock problem." *AIP Conference Proceedings*. AIP (2013).
- [13] J. Brooke, "SUS – A quick and dirty usability scale", *Usability evaluation in industry* 189 -194 (1966), 4-7.

Estudio electromiográfico de la musculatura de suelo pélvico infiltrado con toxina botulínica para el tratamiento del síndrome miofascial

M. Tarazona¹, Fco. J. Nohales¹, J. Garcia-Casado², Y. Ye-Lin², G. Prats-Boluda², J. Alberola-Rubio³

¹ Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario La Fe, València, España, {martatarazo, fnohales}@gmail.com

² Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, València, Spain, {jgarcia, yiye, gprats}@ci2b.upv.es

³ Unidad Investigación y Desarrollo en Ingeniería Biomédica, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, València, España pepe_alberola@iislafe.es

Resumen

El dolor pélvico crónico puede tener su origen en diferentes órganos y sistemas. Una de sus presentaciones es el síndrome miofascial, caracterizado por tener el dolor localizado en una región muscular, con tensión aumentada, y donde se identifican "puntos gatillo" dolorosos. Éstos pueden ser tratados mediante toxina botulínica (BoNTA), que provoca parálisis muscular gracias a la inhibición de liberación de acetilcolina en la placa muscular. Estas regiones musculares nos pueden guiar en el tratamiento de este síndrome. El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de registro electromiográfico de la musculatura de suelo pélvico de forma no invasiva mediante electrodos superficiales (bipolares y bilaterales). Se trata de un estudio descriptivo preliminar, para determinar el uso de la electromiografía en estas pacientes, y su detección de la mejoría o no del dolor tras el tratamiento con BoNTA. Se incluyen 4 pacientes sanas y 4 pacientes patológicas previo y posterior al tratamiento con BoNTA. Se registra la actividad electromiográfica antes y después del tratamiento, durante el reposo, y durante contracciones voluntarias. Los resultados muestran diferencias entre ambos grupos: las más llamativas, respecto a la deficiente relajación de la musculatura del grupo patológico, posiblemente relacionado con su clínica dolorosa y los cambios relativos a la parálisis muscular creada tras la administración de la toxina.

1. Introducción

El dolor pélvico crónico (DPC) tiene como presentación clínica frecuente, el síndrome miofascial: se trata de una condición debilitante entre las mujeres, provoca morbilidad para la paciente e incurre en altos costos para los proveedores de atención médica [1]. Aunque la prevalencia exacta del DPC no se conoce, la Organización Mundial de la Salud sugiere que es de entre un 2.1% y un 24% siendo mayor en mujeres en edad fértil [2].

El DPC puede estar asociado con una disfunción hipertónica de los músculos de suelo pélvico. La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (define el DPC como dolor pélvico crónico o recurrente, con origen posible en diferentes órganos y sistemas; entre ellos el ginecológico, pero para el que no se encuentra una lesión definitiva o causa. La localización del dolor puede ser vaga o incierta, y puede expresarse con síntomas tan variados como dispareunia, vulvodinia, disquecia o molestias difusas en la zona del hipogastrio. Aunque muchas causas de dolor pélvico femenino son tratadas eficazmente por las intervenciones médicas y quirúrgicas existentes, sigue

existiendo un grupo de mujeres para quienes el dolor pélvico crónico es, o no diagnosticado o tratado ineficazmente [3]. Una reciente revisión realizada en Cochrane Systematic Review [4] ha identificado una creciente corriente de métodos no quirúrgicos como alternativa al tratamiento de DPC.

La toxina botulínica (BoNTA) es una potente neurotoxina producida por la bacteria *Clostridium Botulinum*. Cuando se usa con fines terapéuticos, se une a las terminales nerviosas periféricas e inhibe la liberación de acetilcolina en la hendidura sináptica, lo que lleva a la parálisis muscular [5]. En dosis terapéuticas inyectadas por vía intramuscular, la denervación química parcial dura de 3 a 6 meses [6]. La toxina ha sido utilizada comercialmente para aliviar síntomas de torticolis espasmódica, blafaroespasmos, la espasticidad en la parálisis cerebral e incontinencia urinaria en vejiga hiperactiva [7], entre otros.

Los principales métodos que se han descrito para evaluar el DPC son el método de palpación bimanual (escala modificada de Oxford), que es simple, bien tolerado, mínimamente invasivo y aunque proporciona información que depende de la subjetividad clínica, sigue siendo ampliamente utilizado por fisioterapeutas [8] y la electromiografía (EMG) de suelo pélvico.

La EMG ha mostrado tener relevancia clínica y se usa para evaluar objetivamente la función de los músculos del suelo pélvico [9]. Sin embargo, es un método invasivo e incómodo para las pacientes, dado que requiere la introducción de una sonda electromiográfica en la zona vaginal. Así mismo, hasta la fecha no se ha objetivado electrofisiológicamente el comportamiento muscular pélvico después del tratamiento con BoNTA. Contar con una herramienta que permitiese conocer las características electromiográficas de dicha musculatura, que permita validar el tratamiento con la toxina y que fuese no invasivo y no cruento, sería de gran utilidad en la práctica clínica habitual de ginecólogos, médicos rehabilitadores y fisioterapeutas, que velan por el tratamiento de esta patología.

Por ello, proponemos un nuevo método de registro de señal electromiográfica de suelo pélvico más cómodo para la paciente, y sencillo para los clínicos, con electrodos de contacto colocados externamente a la cavidad vaginal en la

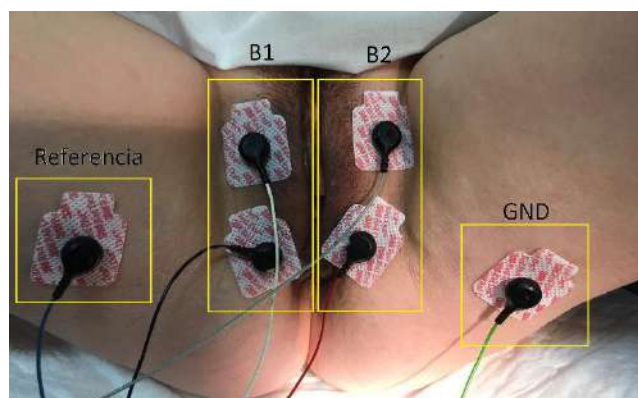


Figura 1. Protocolo de colocación de los electrodos en la superficie del músculo del suelo pélvico MSP

superficie de la musculatura pélvica para su evaluación. Dicho sistema se ha empleado para un registro y estudio preliminar de señales EMG, que compara la actividad mioeléctrica basal (reposo) versus en contracción; así como las diferencias que se evidencian entre un grupo control (sano) y uno patológico (afectas de síndrome miofascial); en éstas últimas, tanto previo como posterior a la inyección de BoNTA.

2. Material y Métodos

2.1. Adquisición de datos

Al tratarse de un estudio piloto, en esta primera aproximación se incluyen un total de 8 pacientes, divididas en dos grupos: Grupo Control (G1), 4 pacientes sanas y Grupo Estudio (G2), 4 pacientes afectadas de síndrome miofascial. Además, las pacientes incluidas en el grupo de estudio actuarán como su propio grupo control y estudio, al ser comparadas antes y después del tratamiento con BoNTA: siendo G2Pr el grupo previo al tratamiento ($n=4$) y G2Po el posterior al tratamiento ($n=4$). Todas las sesiones de registro electromiográfico fueron realizadas en la Unidad de Suelo Pélvico del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia. El estudio fue aprobado por el comité de ética de dicho hospital. Asimismo, las pacientes incluidas en el estudio fueron informadas con anterioridad a su participación, sobre el protocolo de registro, dando su consentimiento. El grupo G1 está conformado por pacientes sanas no afectas de síndrome miofascial con edad $28,45 \pm 1,29$ años que será utilizado para describir el estado muscular del suelo pélvico no patológico. El grupo de estudio (G2) formado por pacientes afectadas de síndrome miofascial con edad de $53,83 \pm 11,12$ años.

En cuanto al protocolo de registro, en primer lugar, se prepara la piel donde se situarán los electrodos empleando pasta abrasiva para disminuir la impedancia electrodo-piel. En cada sesión se colocan 6 electrodos desechables de Ag/AgCl (3M Red Dot 2660-5) en la superficie cutánea más cercana a la musculatura del suelo pélvico, en ambos labios mayores y espinas ilíacas; como muestra la *Figura 1*.

Las señales electromiográficas analizadas en este trabajo son obtenidas en configuración bipolar. El Bipolar 1 (B1) corresponde con la musculatura de suelo pélvico derecho y Bipolar 2 (B2) con la izquierdo. El acondicionamiento de las señales de EMG se realiza a través de amplificadores multipropósito Grass Technologies 15LT con ancho de banda de 3 Hz a 300 Hz y con filtro de rechazo de banda a 50 Hz. Tras ser amplificadas fueron digitalizadas mediante un

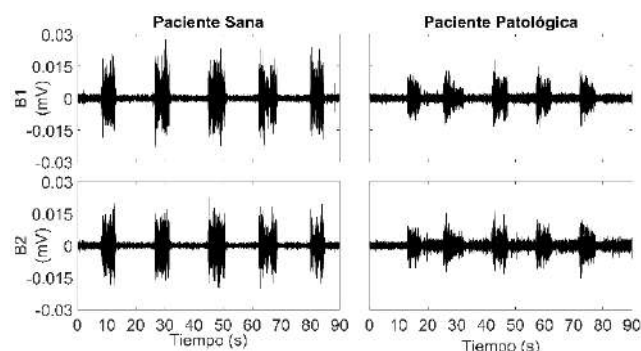


Figura 2. Señales de 5 contracciones tónicas según el protocolo actividad muscular de EMG de DPC en paciente sana (izquierda) y paciente con síndrome miofascial previo al tratamiento con BoNTA (derecha). B1: Bipolar 1. B2: Bipolar 2.

ADC de 16 bits con una frecuencia de muestreo de 3000 Hz para posteriormente diezmarlas a una frecuencia de 1000 Hz.

Así mismo, se establece un protocolo de actividad muscular voluntario. Dicho protocolo fue diseñado por expertos clínicos en la musculatura pélvica con el fin de evaluar el estado muscular previo y posterior a la administración de BoNTA. El protocolo de actividad muscular para G2 corresponde a realizar 5 contracciones voluntarias tónicas mantenidas de la musculatura pélvica durante 5 s, con periodos basales de relajación de 10 s; a continuación, se realiza administración de BoNTA y transcurridos 2 minutos de registro basal, se repiten 5 contracciones con la misma duración y mismo periodo de relajación. En el caso de las pacientes del grupo G1 al no requerir BoNTA solo se realizan las primeras 5 contracciones y periodos de relajación.

En cuanto a la toxina usada para el tratamiento del síndrome miofascial, se trata de BoNTA 80 U.I. (Xeomin, Merz Pharma España S.L.). Aunque los estudios farmacocinéticos no son factibles en humanos, los estudios en animales han demostrado que después de la infiltración de BoNTA en musculatura esquelética, se produce una lenta difusión muscular siendo la vida media entorno a las 10h.

2.2. Análisis de datos

En primer lugar, se identifican las contracciones y los periodos basales presentes en las señales B1 y B2. Posteriormente las contracciones fueron segmentadas manualmente por expertos.

Para cada segmento (contracción o basal) se obtuvo la amplitud de la señal, la frecuencia media y dominante de su espectro obtenido con periodograma no modificado con ventana Hamming con 4096 puntos. Además, con el fin de caracterizar la morfología de la señal, se obtuvo el área bajo la curva y la asimetría tanto de los periodos contráctiles como basales de la envolvente de la señal de EMG. La envolvente de la señal (s) se obtuvo como se define en (1), donde $s_a(n)$ es la señal analítica y \hat{s} es la transformada Hilbert de $s(n)$. Posteriormente filtrada con un filtro Butterworth pasa bajo con frecuencia de corte en 10 Hz.

$$A(n) = |s_a(n)| = \sqrt{s^2(n) + \hat{s}^2(n)} \quad (1)$$

Finalmente, los resultados son mostrados en un diagrama de cajas y bigotes en el que se comparan descriptivamente las

características electromiográficas de las pacientes sanas (G1) y patológicas previo (G2Pr) y posterior (G2Po) a la infiltración con BoNTA para las dos señales registradas (B1 y B2). Así mismo, se realiza test estadístico ANOVA.

3. Resultados y discusión

La *Figura 2* muestra un ejemplo de registro de la actividad eléctrica registrada por los canales B1 y B2 obtenida con la aplicación del protocolo de actividad muscular voluntaria previamente planteado. En la figura se puede observar las cinco contracciones realizadas voluntariamente por una mujer sana (*Figura 2 izquierda*) y por una afectada de síndrome miofascial previo al tratamiento con BoNTA (*Figura 2 derecha*). Para B1 y B2, las contracciones realizadas por las pacientes de G1 es fácilmente identificable el inicio y final de la contracción. Sin embargo, en G2Pr es más complejo identificar el final del periodo contráctil; evidenciando que las pacientes incluidas en el grupo G1 poseen mayor control sobre la contracción muscular voluntaria que las pacientes del grupo estudio. Además, el periodo basal en G2Pr muestra más actividad electromiográfica que G1, mostrando que la actividad muscular en reposo en G2 es mayor que en G1, es decir, las pacientes patológicas no realizan correctamente la total relajación de la musculatura pélvica, permaneciendo en un estado contráctil mantenido, que puede incurrir en dolor crónico [7,10].

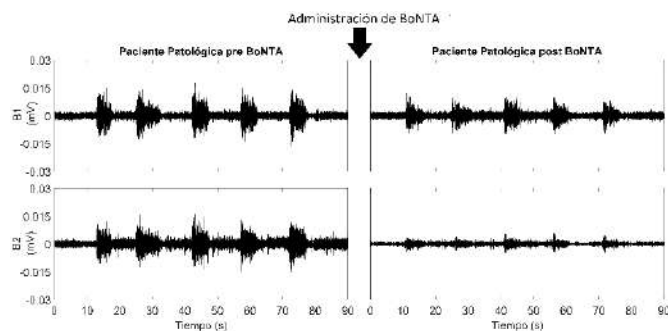


Figura 3. Señales de 5 contracciones tónicas según el protocolo actividad muscular de EMG de DPC en paciente patológica con síndrome miofascial, previo al tratamiento con BoNTA (izquierda) y posterior al tratamiento (derecha). B1: Bipolar 1. B2: Bipolar 2.

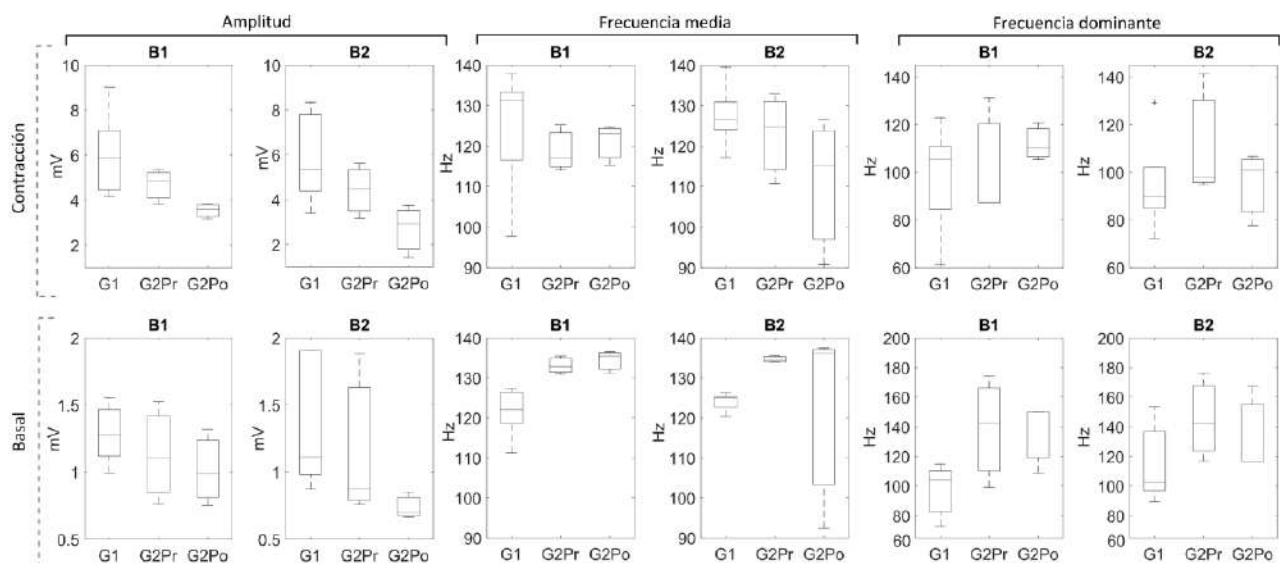


Figura 4. Diagramas de cajas y bigotes para las contracciones (arriba) y para los tramos basales (abajo) de los parámetros calculados. De izquierda a derecha: Amplitud, Frecuencia media y frecuencia dominante. Para los canales B1: Bipolar 1 y B2: Bipolar 2

La *Figura 3* muestra un ejemplo de señal de los canales B1 y B2 de una mujer del grupo de estudio, previo (G2Pr) y posterior (G2Po) a la infiltración con BoNTA. Se puede ver como la amplitud de las contracciones y en los periodos basales se reduce después del tratamiento, disminuyendo por tanto la actividad muscular, objetivo del tratamiento con BoNTA. Como se comentó anteriormente, la toxina evita la liberación de acetilcolina produciendo parálisis muscular. Ésta se evidencia en la menor actividad mioeléctrica detectada por B1 y B2, reduciendo el dolor de las pacientes de G2. [7,10]

Las *Figuras 4 y 5* muestran los diagramas de cajas y bigotes relativos a los parámetros calculados para los periodos contráctiles y basales. En ellos podemos comparar directamente los dos canales registrados (B1 y B2), con los tres grupos de pacientes descritos.

Para los periodos contráctiles, se puede observar como la amplitud para G1 es mayor tanto para G2Pr como para G2Po en B1 y B2. La frecuencia media es similar para G1 y G2Pr en ambos canales, sin embargo, en B2 se observa un desplazamiento de la frecuencia media hacia bajas frecuencias después de la infiltración (G2Po), comportamiento no observado en B1. La frecuencia dominante es superior en G2Pr que en G1 para ambos canales, aunque más acusado en B2. También en B2 y al igual que ocurría con la frecuencia media, la frecuencia dominante muestra un desplazamiento hacia bajas frecuencias tras la infiltración con BoNTA, alcanzando valores similares a los mostrados por las pacientes sanas. La frecuencia dominante en B1 no mostró este comportamiento. El AUC siempre fue superior en las G1, seguido de G2Pr y G2Po para los dos canales. La asimetría mostró el mismo comportamiento invertido de forma invertida. Siendo las diferencias entre grupos.

Los periodos basales tuvieron amplitudes similares en ambos grupos de pacientes y canales, siendo la actividad registrada por B2 la que mostró una amplitud menor después de la infiltración de BoNTA (G2Po). La frecuencia media en G2Pr es claramente superior a G1 para todos los

canales, pudiendo ser un indicador de que el músculo en las pacientes patológicas no se relaja correctamente, aspecto que Adelowo et al [11] propone como causa del dolor miofascial. Además, la frecuencia media que presenta el músculo pélvico patológico relajado, es similar a la frecuencia media que presenta el músculo sano contraído (aprox 120 a 130 Hz). Asimismo, también se detecta desplazamiento hacia bajas frecuencias en G2Po en B2. La frecuencia dominante de los periodos basales presenta también valores más altos en las G2Pr que en G1, indicando de nuevo, deficiente o insatisfactoria relajación muscular. Además, encontramos también desplazamiento hacia bajas frecuencias en G2Po de B2 después infiltración de BoNTA. Este desplazamiento detectado en varios parámetros podría indicar mayor relajación muscular después de la denervación muscular provocada por la toxina al inhibir la acetilcolina. Encontrando diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos.

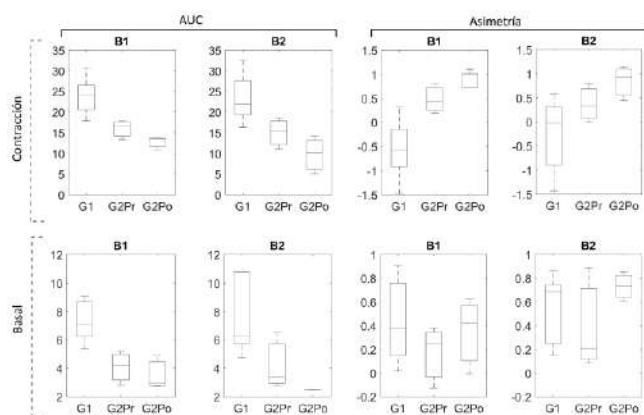


Figura 5. Diagramas de cajas y bigotes para las contracciones (arriba) y para los tramos basales (abajo) de los parámetros calculados a partir de la envolvente de la señal de EMG. De izquierda a derecha: AUC: área bajo la curva, asimetría. Para los canales Bipolar 1. B2: Bipolar2

4. Conclusiones

En el presente estudio se han mostrado los primeros resultados de un nuevo método de registro de señal electromiográfica de la musculatura del suelo pélvico de uso superficial y no invasivo, a diferencia de los usados hasta la fecha, que requieren la introducción de una sonda electromiográfica en la cavidad vaginal, siendo peor tolerados por las pacientes.

Con el fin de conocer y describir la musculatura pélvica, en este estudio se comparan las características frecuenciales y morfológicas de la señal de EMG de la musculatura pélvica, en tres grupos de pacientes. Las pacientes sanas (G1) mostraron en la actividad muscular tónica voluntaria mayor control del inicio y fin de la contracción, mayor amplitud de la misma y menor actividad mioeléctrica en los periodos de relajación intercontráctiles. Por su parte, las pacientes patológicas (G2), mostraron contracciones voluntarias de menor intensidad y menor control de la musculatura pélvica, especialmente para el control de su finalización. También presentaron periodos de relajación con alta actividad mioeléctrica, pudiendo ser reflejo del dolor continuo que sufren estas pacientes. Después de la parálisis muscular provocada por BoNTA, la amplitud de

las contracciones se ve drásticamente reducida, así como la actividad mioeléctrica en los periodos de relajación. También se obtiene valores de frecuencia dominante más similares al grupo de mujeres sanas.

Aunque se ha mostrado una descripción significativa y paramétrica del comportamiento de la toxina, este estudio presenta un tamaño muestral bajo, y éste deberá ser ampliado en futuros estudios. Asimismo, el efecto de la parálisis muscular provocado por la toxina debe ser cuantificado longitudinalmente durante el tiempo que dura el efecto de la misma, en el intervalo de los 3 a 6 meses siguientes a la infiltración. Por otra parte, se deberían evaluar aspectos clínicos de las pacientes, y su evolución en el tiempo; mediante la escala visual analógica para el dolor y el SF-12, para el estudio de la vida sexual de las pacientes con DPC.

5. Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por VLC Campus en Convocatoria Ayudas: UPV-La Fe 2016 Subprograma C, SPEHG (ID: C18) y con fondos de contratos privados con Merz Pharma España S.L.

6. Referencias

- [1] Gabriela E. Halder. Botox combined with myofascial release physical therapy as a treatment for myofascial pelvic pain. *Investig Clin Urol* 2017;58:134-139.
- [2] Latthe P, Latthe M, Say L, Gülmezoglu M, Khan KS. WHO systematic review of prevalence of chronic pelvic pain: a neglected reproductive health morbidity. *BMC Public Health* 2006 Jan ;6:177.
- [3] Smith C.P., Chancellor M.B. (2017) Botulinum Toxin Endoscopic Injection for Pelvic Pain. In: Moldwin R. (eds) *Urological and Gynaecological Chronic Pelvic Pain*. Springer, Cham.
- [4] Stones W, Cheong YC, Howard FM, Singh S. WITHDRAWN: Interventions for treating chronic pelvic pain in women. *Cochrane database Syst Rev*. England; 2015;3:CD000387.
- [5] Simpson L. Molecular pharmacology of botulinum toxin and tetanus toxin. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*.1986;26:427–453.
- [6] Zhang Y, Smith CP *Toxicon*. 2018 Jun 1;147:129-133. doi: 10.1016/j.toxicon.2017.08.017. Epub 2017Aug 25..
- [7] Abbott JA, Jarvis SK, Lyons SD, et al. Botulinum toxin type A for chronic pain and pelvic floor spasm in women—a randomizedcontrolledtrial. *Obstet Gynecol* 2006;108(4):915–923.
- [8] Raj PP. Botulinum toxin therapy in pain management. *Anesthesiol Clin North America* 2003;21(4):715–731.
- [9] Resende AP, Petricelli CD, Bernardes BT, Alexandre SM, Nakamura MU, Zanetti MR. Electromyographic evaluation of pelvic floor muscles in pregnant and nonpregnant women. *Int Urogynecol J*. 2012 Aug;23(8):1041-5.
- [10] Spitznagle TM, Robinson CM. Myofascial pelvic pain. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2014 Sep;41(3):409-32.
- [11] Adelowo A, Hacker MR, Shapiro A, Modest AM, Elkadry E. Botulinum toxin type A (BOTOX) for refractory myofascial pelvic pain. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*.2013 Sep-Oct;19(5):288-92.

Educación

Miércoles, 21 de noviembre

Desarrollo de un modelo de tumor multimodal para investigación y formación en cirugía pancreática laparoscópica

J.A. Sánchez-Margallo, J. F. Ortega, F.M. Sánchez-Margallo

Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,

{jasanchez, jfortega, msanchez}@ccmijesususon.com

Resumen

El objetivo principal de este trabajo es presentar una metodología para el desarrollo de un modelo de tumor pancreático, visible en múltiples sistemas de diagnóstico por imagen, para su aplicación en investigación y formación en cirugía pancreática laparoscópica. Este trabajo ha sido dividido en dos fases, en modelo ex vivo y en modelo experimental. Para la primera fase, se crearon seis modelos de tumor en dos especímenes ex vivo de páncreas porcino. Para ello, se emplearon diferentes concentraciones agarosa, Sephadex y glicerina combinados con contraste para tomografía axial computarizada (TAC), contraste para resonancia magnética nuclear (RMN) y calcio. La calidad en la visualización de cada modelo de tumor fue valorada mediante imagen ecográfica, TAC y RMN. Tres de los seis modelos de tumor desarrollados fueron visibles mediante ecografía, TAC y RMN. Estos tres modelos de tumor fueron analizados durante la fase experimental. Los resultados de esta fase mostraron que los tres modelos de tumor fueron visibles mediante ecografía, dos mediante TAC y solo uno mediante RMN.

1. Introducción

El cáncer de páncreas es la cuarta causa principal de muertes relacionadas con cáncer en el mundo. Las tasas de supervivencia de este tipo de cáncer en 5 y 2 años son de 6% y 10%, respectivamente, y sin mejoras significativas en los últimos años [1]. Estas tasas tan bajas de supervivencia son debidas principalmente a que este tipo de cáncer es diagnosticado en etapas muy avanzadas y con pocas opciones de tratamiento disponibles. En este sentido, menos del 20% de los pacientes con cáncer de páncreas son diagnosticados con tumores localizados y potencialmente curables [2]. Este diagnóstico tardío puede ser atribuido a la rápida metástasis de este tipo de cáncer y a la falta de métodos fiables para un diagnóstico preciso [3]. Por ello, es necesario explorar nuevos métodos y tecnologías que permitan avanzar en estos métodos de diagnóstico por imagen. Del mismo modo, para obtener un diagnóstico preciso de tumores pancreáticos, es fundamental que el personal médico se forme de forma exhaustiva en el uso e interpretación de los métodos actuales de diagnóstico por imagen. La aplicación práctica después de la experiencia observacional es extremadamente importante para adquirir habilidad en estas modalidades diagnósticas.

Con respecto al tratamiento del cáncer de páncreas, actualmente la cirugía es el único tratamiento curativo viable para este tipo de tumores. Sin embargo, la tasa de

márgenes negativos de resección en las cirugías pancreáticas siguen siendo todavía bajos (34-42%) [4]. En la actualidad, las técnicas mínimamente invasivas son usadas para abordar este tipo de tumores, obteniendo resultados quirúrgicos similares a la cirugía convencional [5]. Sin embargo, la resección pancreática laparoscópica es un procedimiento técnicamente complejo debido a la limitada información visual y táctil proporcionada durante la cirugía laparoscópica, a que el páncreas es una estructura anatómica delicada situada próxima a importantes estructuras vasculares y a que su ubicación retroperitoneal dificulta el acceso y la identificación de patologías durante la intervención. Por lo tanto, el entrenamiento quirúrgico con modelos pancreáticos fiables es crucial para poder abordar los retos de la cirugía pancreática laparoscópica.

Existen varios simuladores en el mercado y en la literatura científica que permiten su uso para formación e investigación en terapias y diagnóstico para cáncer de páncreas como el IOUSFAN® (Kyoto Kagaku Co., Ltd, Kyoto, Japón), el CIRS Anthropomorphic Torso Phantom (Model 600; CIRS Inc., Norfolk, VA, EE. UU.) o el modelo desarrollado por [6]. Sin embargo, ninguno de estos modelos pancreáticos permite su uso mediante sistemas multimodales de imagen médica, la mayoría de ellos se centran en una única modalidad de imagen. Además, en su mayoría no proporcionan lesiones pancreáticas y, en algunos casos, la falta de realismo los hace modelos no muy fiables para el entrenamiento quirúrgico y de diagnóstico. Por consiguiente, en este trabajo describimos el proceso de desarrollo de un tumor pancreático artificial en un modelo porcino, visible mediante múltiples técnicas de diagnóstico por imagen, para su uso en investigación y entrenamiento en cirugía pancreática laparoscópica, diagnóstico y cirugía guiada por imagen.

2. Materiales y métodos

Este estudio ha sido organizado en dos fases. Una primera fase, en la cual un conjunto de modelos de tumor pancreático fueron creados en un espécimen ex vivo de páncreas porcino. Posteriormente, la visibilidad de estos modelos de tumor fueron evaluadas mediante imagen ecográfica, TAC y RMN. Durante la segunda fase, los ejemplares de tumor que obtuvieron mejores resultados de visibilidad en la fase anterior fueron desarrollados en un modelo in vivo experimental. Del mismo modo, la

visibilidad de estos modelos de tumor in vivo fue analizada mediante ecografía intracorpórea, TAC y RMN.

Este estudio ha sido revisado y aprobado por el Comité local de bienestar y ética animal. El alojamiento y manipulación de los animales 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 y las directrices ARRIVE.

Las sustancias utilizadas para el desarrollo de las mezclas para los diferentes modelos de tumor pancreático fueron las siguientes:

- Sephadex (Sephadex C-25; Sigma-Aldrich, San Luis, EE. UU.)
- Glicerina (Glicerina 99.9%; Panreac, Barcelona, España)
- Agarosa (D2; CONDA, Madrid, España)
- Calcio (250 mg por tableta, Weifa SA, Oslo, Noruega)
- Cloruro de metiltionina -Azul de Metileno- (C.I. 52015; Panreac, Barcelona, España)
- Medio de contraste para TAC (Urografin 76%; Bayer, Leverkusen, Alemania)
- Medio de contraste RMN (Gadovost 1 mmol / ml; Bayer, Leverkusen, Alemania)
- Agua destilada

Los equipos de laboratorio utilizado para la creación de los modelos fueron los siguientes:

- Escala de precisión (Pioneer TM; OHAUS, Parsippany, EE. UU.)
- Termómetro químico de vástago sólido (-10 a 250 °C; Nahita, Navarra, España)
- Placa agitadora magnética y térmica (ARE; VELD Scientific, Usmate, Italia)
- Mezclador Vortex (VWR International, Randor, EE. UU.)

2.1. Fase I: Modelo ex vivo

Seis modelos de tumor fueron creados en la cabeza, cuerpo y cola de dos especímenes ex vivo de un páncreas de cerdo (Fig. 1). Teniendo en cuenta otros estudios científicos relacionados con la creación de tumores multimodales [7,8], principalmente hepáticos, como base para la creación de cada modelo, se empleó una mezcla de agarosa, Sephadex y glicerina (Mezcla base). Para cada modelo de tumor se emplearon diferentes combinaciones de la base anterior con contraste para TAC, contraste para RMN y calcio. Todos los compuestos fueron mezclados con Cloruro de metiltionina para facilitar su identificación visual. Seguidamente, los compuestos fueron inyectados en las localizaciones pertinentes de cada espécimen mediante una aguja 14-G, 3 modelos por cada uno. Finalmente, se analizó la visibilidad de cada uno de los modelos mediante los diferentes sistemas de imagen diagnóstica. Para permitir la visualización ecográfica, ambos especímenes se introdujeron en un tanque de agua y se utilizó una sonda de ecografía laparoscópica para realizar el escaneo.

La composición de cada uno de los modelos desarrollados fue:

- **Modelo 1:** Base + Contraste para TAC. Basado en el modelo de tumor hepático multimodal presentado por Rethy et al. [7].
- **Modelo 2:** Base + Contraste para TAC + Calcio.
- **Modelo 3:** Base + Contraste para TAC + Contraste para RMN.
- **Modelo 4:** Base + Contraste para TAC (doble concentración que el Modelo 3) + Contraste para RMN (doble concentración que el Modelo 3).
- **Modelo 5:** Base + Contraste para TAC. Basado en el modelo de tumor hepático multimodal presentado por Chmarra et al. [8].
- **Modelo 6:** Base + Contraste para TAC + Calcio (mitad de concentración que el Modelo 2).

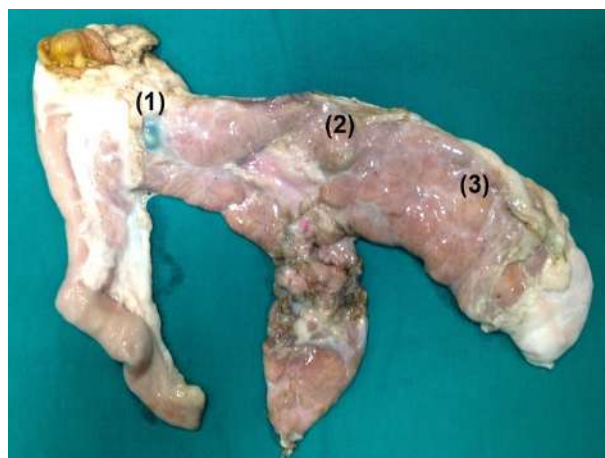


Figura 1. Localización de los modelos de tumor pancreático en un espécimen de páncreas porcino en la cabeza (1), cuerpo (2) y cola (3) del páncreas.



Figura 2. Creación del modelo de tumor pancreático en la cabeza del páncreas durante la fase in vivo.

2.2. Fase II: Modelo in vivo

En esta segunda fase, los modelos de tumor de la fase previa con los mejores resultados de visibilidad (mayor contraste con el tejido circundante) fueron creados por vía percutánea mediante una aguja 14-G en un modelo animal experimental (Fig. 2). Al igual que en la fase anterior, la

calidad en la visibilidad de los modelos tumorales resultantes fueron analizados mediante imagen ecográfica, TAC y RMN (Fig. 3).



Figura 3. Análisis mediante ecografía intracorpórea de los modelos de tumor pancreático durante la fase in vivo.

3. Resultados y discusión

3.1. Fase I: Modelo ex vivo

Todas las composiciones se crearon con éxito, excepto la del Modelo 6. Después del tiempo de enfriamiento, este modelo no se llegó a consolidar por completo, adquiriendo una estructura acuosa. Todos los modelos de tumor pancreático desarrollados, excepto el Modelo 6, fueron visibles mediante ecografía. Por otro lado, todos los modelos fueron fácilmente identificables en las imágenes de TAC. Sin embargo, el Modelo 6 mostró un pobre contraste con el tejido circundante. En las imágenes de RMN, el Modelo 1 mostró una escasa definición con respecto al tejido pancreático adyacente. Los Modelos 2 y 5 fueron claramente visibles en las imágenes de RMN, tanto en las secuencias T1 como T2. Los Modelos 3 y 4 generaron artefacto en ambas secuencias de imágenes de RMN. El Modelo 6 no fue visible en ninguna de las secuencias de RMN. Por consiguiente, los Modelos 1, 2 y 5 fueron los únicos modelos de tumor visibles en las tres modalidades de imagen analizadas. Los Modelos 1 y 5 incluían contraste para TAC y diferentes concentraciones de glicerina, y el Modelo 2 presentaba además una mezcla de calcio.

3.2. Fase II: Modelo in vivo

Durante la fase con modelo in vivo, tanto el modelo de tumor con menos concentración de glicerol (Modelo 1, en la cabeza de páncreas) como el modelo con calcio (Modelo 2, en el cuerpo de páncreas) fueron visibles en las imágenes de ecografía como masas hipoeoicas (Fig. 4). La ubicación del Modelo 5 en la cola del páncreas y su proximidad a otras estructuras anatómicas, como hígado e intestino, dificultaron su identificación mediante ecografía. Los tres modelos de tumor creados fueron claramente visibles en las imágenes de TAC (Fig. 5). El Modelo 2 fue el único visible en las imágenes de RMN (Fig. 6).

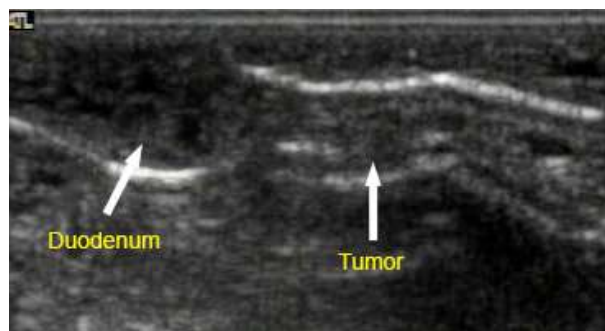


Figura 4. Imagen ecográfica del modelo de tumor (Modelo 2) creado en la cabeza del páncreas.

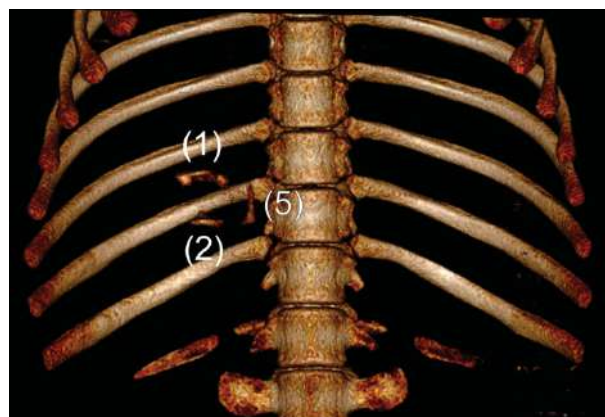


Figura 5. Imagen de TAC de los tres modelos de tumor localizados en la cabeza (Modelo 2), cuerpo (Modelo 1) y cola del páncreas (Modelo 5).

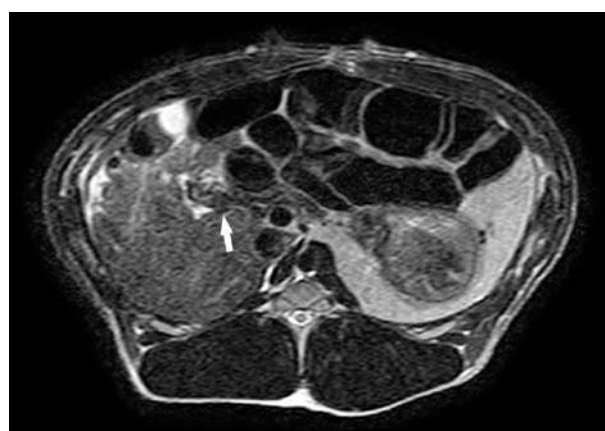


Figura 6. Imagen de RMN con la localización (flecha blanca) del modelo de tumor en la cabeza del páncreas (Modelo 2).

Por consiguiente, el Modelo 2 planteado en este estudio, tanto ex vivo como in vivo, es el único que permite su visualización mediante técnicas de imagen multimodal como ecográfica, TAC y RMN. Esto permite que este tipo de modelo de tumor pancreático ofrezca amplias posibilidades para su aplicación en estudios de investigación en cáncer de páncreas y su diagnóstico, así como para la formación en técnicas laparoscópicas de resección pancreática y en técnicas de diagnóstico por imagen.

A pesar de las mejoras en las técnicas de imagen preoperatoria, como el TAC multidetector y la RMN, la ecografía intraoperatoria sigue siendo una herramienta indispensable para el cirujano abdominal. Debido a su

naturaleza dinámica e instantánea, la ecografía tiene ventajas inherentes sobre otras modalidades de imágenes para el diagnóstico. Sin embargo, uno de los principales obstáculos para la incorporación de la ecografía en la práctica quirúrgica habitual es la dificultad para acceder a herramientas para la capacitación y entrenamiento en ecografía. La técnica de ecografía laparoscópica requiere una serie de habilidades para poder identificar con precisión y eficiencia la el órgano o patología a abordar. Modelos como el presentado en este estudio proporcionan una serie de herramientas realistas para favorecer la competencia en el manejo e interpretación ecográfica en el abordaje de tumores pancreáticos. Estos modelos permiten su uso en entornos de formación con simulador, así como ser implementados en modelos in vivo experimentales.

Los modelos de tumor pancreático presentados pueden ser de particular importancia para afrontar la difícil curva de aprendizaje en el uso de la ecografía para los procedimientos de tratamiento de patologías pancreáticas. En este sentido, la colocación de una aguja de biopsia o antenas de ablación en tumores pancreático pequeños, junto con un abordaje laparoscópico, demandan múltiples habilidades. Para adquirir estas habilidades, se requieren de alrededor de 25 a 40 procedimientos/exámenes pancreáticos según Machi et al. [9]. El modelo de tumor pancreático presentado describe un escenario patológico en el páncreas que ofrece a los cirujanos noveles la oportunidad de aprender a realizar un procedimientos completo, así como obtener una mayor conciencia de los métodos quirúrgicos para abordar el cáncer de páncreas. Los modelos tumorales presentados podrían ser útiles para el entrenamiento de habilidades quirúrgicas laparoscópicas para pancreatoduodenectomía y procedimientos de pancreatectomía distal con TAC, RMN y seguimiento mediante ecografía, así como para otros procedimientos quirúrgicos mínimamente invasivos como la enucleación tumoral NOTES guiada por ecografía.

A pesar de los resultados similares a la cirugía abierta, la cirugía pancreática laparoscópica conlleva a una información táctil limitada y una difícil identificación de las lesiones durante la cirugía debido a la complicada posición anatómica del páncreas. En este sentido, las técnicas quirúrgicas guiadas por imagen pueden proporcionar herramientas para la evaluación y visualización de los márgenes de resección de forma intraoperatoria, lo que permite guiar al cirujano a lograr resecciones más precisas y exitosas. En este sentido, los modelos de tumores pancreáticos presentados en este estudio proporcionan herramientas básicas para el desarrollo y la mejora de las técnicas guiadas por imágenes para la cirugía pancreática, con la consiguiente mejora de los resultados quirúrgicos asociados [4]. Una parte fundamental para el desarrollo de estos sistemas de navegación quirúrgica es el uso de modelos fiables y multimodales para la combinación imágenes preoperatorias (TAC y MRN) e intraoperatorias (ecografía) en cirugía guiada por imagen.

Por otro lado, este tipo de modelos ofrecen herramientas fiables y realistas para facilitar la formación en evaluaciones médicas preclínicas y la validación de

tecnologías quirúrgicas innovadoras y novedosas, como es el caso de los sistemas de imagen por fluorescencia para la detección de tumores pancreáticos y el guiado durante la cirugía de resección pancreática.

La principal limitación de estos modelos de tumor pancreático son las variaciones anatómicas entre el páncreas porcino y el humano, principalmente con respecto al número y distribución de los lóbulos pancreáticos. Sin embargo, ambos tienen una orientación y localización anatómica comparable, que es un factor importante para el entrenamiento quirúrgico y la investigación en cáncer de páncreas.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha presentado el proceso para el desarrollo de un modelo de tumor pancreático multimodal, tanto ex vivo como in vivo, claramente identificable mediante imagen ecográfica, TAC y RMN. Este modelo se presenta como una herramienta útil para la formación y futuras investigaciones en cirugía pancreática laparoscópica y el diagnóstico en cáncer de páncreas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Consejería de Economía e Infraestructuras de la Junta de Extremadura y la Unión Europea - Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

Referencias

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2015) Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 65(1):5-29.
2. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M (2011) Pancreatic cancer. *Lancet* 378: 607–20.
3. Chen YJ, Wu SC, Chen CY, Tzou SC, Cheng TL, Huang YF, et al. Peptide-based MRI contrast agent and near-infrared fluorescent probe for intratumoral legumain detection. *Biomaterials*. 2014; 35: 304–15.
4. 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
5. de Rooij T, Jilesen AP, Boerma D, Bonsing BA, Bosscha K, van Dam RM, et al. (2015) A nationwide comparison of laparoscopic and open distal pancreatectomy for benign and malignant disease. *J Am Coll Surg* 220(3):263–70.e1
6. Woliner-van der Weg W, Deden LN, Meeuwis APW, Koenrades M, Peeters LHC, Kuipers H, Laanstra GJ, Gotthardt M, Slump CH, Visser EP (2016) A 3D-printed anatomical pancreas and kidney phantom for optimizing SPECT/CT reconstruction settings in beta cell imaging using ¹¹¹In-exendin. *EJNMMI Phys* 3:29
7. Rethy A, Langø T, Aasland J, Mårvik R (2010) Development of a multimodal tumor model for porcine liver. *J Gastrointest Surg* 14:1969–73
8. Chmarra MK, Hansen R, Mårvik R, Langø T (2013) Multimodal phantom of liver tissue. *PLoS One* 8:e64180
9. Machi J, Sigel B, Zaren HA, Kurohiji T, Yamashita Y (1993) Operative ultrasonography during hepatobiliary and pancreatic surgery. *World J Surg* 17: 640

Knowledge elicitation of pedagogical needs for TEL-based minimally invasive surgery learning of multiple skills

I. Oropesa¹, M.K. Chmarra^{2,3}, D. Gutiérrez⁴, P. Sánchez-González^{1,5}, C. Guzmán-García¹, L.F. Sánchez-Peralta⁶, K. Juhos⁷, A. Negoita⁸, G. Wéber⁷, C. Tiu⁸, F.M. Sánchez-Margallo⁶, J. Dankelman², E.J. Gómez^{1,5}

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

² Department of Biomechanical Engineering. Faculty of Mechanical, Maritime and Materials Engineering (3mE), Delft University of Technology, Delft, Países Bajos; mchmarra@gmail.com, j.dankelman@tudelft.nl

³ Industrial Design Engineering, Delft University of Technology, Delft, Países Bajos

⁴ Everis Consultancy Ltd., Valencia, España; david@disenodidactico.com

⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

⁶ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España; {lfsanchez, msanchez}@ccmijesususon.com

⁷ Department of Surgical Research and Techniques, Semmelweis University, Budapest, Hungría, juhoskriszta89@gmail.com, gyorgyweber@yahoo.com

⁸ MEDIS Foundation, Campina, Rumanía, alexandru.negoita@gmail.com, tiucalin@yahoo.com

Abstract

Technology enhanced learning (TEL) is nowadays consolidated as a complement for training the different skills required in minimally invasive surgery (MIS). However, its use is fragmented, depending on the availability of TEL resources in hospitals and training centres, addressing individual skills rather than all skills as a whole, and lacking a pedagogical model to support efficient learning. The EASIER project will implement a learning platform supported by a validated pedagogical model and integrate tools and resources to train and assess together all skills required from new surgeons. In this study, we present the early definition stages, in which a knowledge elicitation methodology is developed to capture the know-how of surgeons, engineers and educational psychologists. First results are presented in the form of learning actions and potential means of implementation. This knowledge will be key in defining the pedagogical needs of the platforms.

1. Introduction

Technology enhanced learning (TEL) is nowadays a consolidated reality in all aspects of minimally invasive surgery (MIS) training. Box trainers and virtual reality (VR) simulators are systematically used to train technical skills. The potential of didactic videos is harnessed via e-learning portals devoted to teaching necessary cognitive skills. Decision-making and equipment handling in the operating room (OR) are taught via virtual environments, even allowing teamwork training [1].

As a consequence of the growing use of TEL, its role in MIS training still needs to be established within the context of the learning curricula. The availability of TEL resources in hospitals and training centres has on occasions been subject to economic or operational reasons rather than to pedagogical ones [2]. Moreover, TEL-based learning and assessment is done on a skill-by-skill basis, without cross-

referencing student data to provide an integrative, multi-skill answer to the question of what makes a good surgeon.

In this sense, there is no consensus on how to structure training. There are no guidelines, no pedagogical model tailored to the field to explain how best to achieve the desired learning outcomes when learning of surgical skills is supported by TEL. This makes it difficult to match training to shared indicators that would allow comparing results from different programs and syllabi. Only recent initiatives such as the Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons (SAGES) Fundamentals of Laparoscopic Surgery (FLS) [3] or the European Association of Endoscopic Surgery (EAES) Laparoscopic Surgical Skills (LSS) [4] are making efforts to standardize training in North America and Europe, respectively. However, there is still a lack of evidence on the validity of these programmes given their high-stakes use [5].

In 2014, the MISTELA project, funded by the EC, developed a pedagogical model for setting and assessing learning outcomes in MIS-oriented e-learning environments. This model, built from Conole's 3D pedagogy framework [6], provided flexible guidelines on how to map learning outcomes to tools and resources independently of the learning theories advocated by course creators. The model was validated using an ad hoc, video-supported learning management system (LMS), proving its value for MIS cognitive skills' training. The challenge remained on whether this same model could be expanded towards other domains of MIS learning [7].

Come 2018, EC-funded EASIER project strives to provide answers to some of the challenges presented here. EASIER proposes an innovative approach to surgical and interventional multi-skills' education based on TEL. It will build a novel LMS connecting different TEL assets (VR

simulators, augmented videos, etc.). An expansion of the MISTELA pedagogical model will provide a reference for making informed decisions about the appropriate didactic contents. User performance data on the different skills will be gathered and integrated to provide a complete assessment profile both to the resident and the mentor. A validation study will help provide evidence on this new LMS in the European context.

During the early stages of the project, work is focusing on bringing together experts on surgery, engineering and educational psychology to define the pedagogical needs of the EASIER learning platform. For this, a novel knowledge elicitation (KE) methodology has been developed to bridge the three expertise domains and facilitate information exchange. KE is the process by which experts' know-how is distilled to obtain a tangible representation of their knowledge. In EASIER, this knowledge will be channelled towards the definition of the learning needs of surgeons in general, and of the EASIER learning platform in particular. In this study, we present this KE methodology, as well as its preliminary results.

2. KE Justification

There are two main goals for KE in the EASIER project:

- The definition of a **user model**: KE will allow us to identify useful factors that may influence surgical expertise to build a user model. This model, posed as an ontology, will shape the knowledge domain and describe the treatment of user learning data in the platform.
- The definition of the **pedagogical needs**: Pedagogical needs address the aspects that the EASIER learning platform should consider to be pedagogically sound and aligned with the pedagogical model.

To implement the learning platform, developers must know what kind of actions need to be supported by it. An **action** is an event or task directed to a specific learning goal. Performing a writing task, carrying out a test, or writing a dissertation are common examples of actions.

Actions cannot be understood without the frame of reference of their corresponding activity. An **activity** is a high-level structure to enable learning, directed towards a general learning goal. Activities are composed of actions in the same way as courses are composed of exercises, assignments, and readings. Both concepts are derived from the MISTELA pedagogical model [7].

The functional properties of a tool, such as a virtual learning environment, that determine the possibilities it provides, are denominated "affordances", a term used in educational technology to describe how a technology facilitates specific approaches to learning practice [8]. These affordances must be matched to the actions required from the learning environment, and finally be translated into pedagogical needs.

3. KE Methodology

KE is composed of the following steps, leading to the two intended outcomes (see Fig. 1).

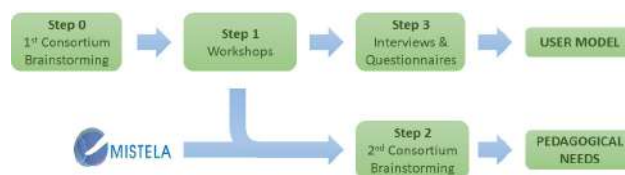


Figura 1. KE methodology

3.1. Step 0: 1st Consortium brainstorm

Setting: Brainstorm session performed amongst members of the EASIER Consortium, aimed at gathering the initial insights based on their interdisciplinary expertise.

Results: Conclusions to this session are used to establish a series of key topics for the next steps.

3.2. Step 1: Workshops

Setting: Each clinical partner conducts a brainstorming workshop within its own facilities. Ideal number of participants should be 3-5, preferably, but not necessarily exclusively, amongst teaching experts. Brainstorm guidelines for these sessions are based on [9].

Results: Conclusions to these workshops are used to guide the action definition process (Step 2) and pose key questions for questionnaires and interviews (Step 3).

3.3. Step 2: 2nd Consortium brainstorm

Setting: Brainstorm session performed amongst members of the EASIER Consortium. This session uses both the results of the workshops to structure the session, and the foreknowledge obtained in project MISTELA. More specifically, the definition of actions is based on the MISTELA pedagogical model, which helps guide the session as well as its expansion in EASIER.

The session is posed in two acts. During the first one, actions are brainstormed by asking participants about potential activities to learn, train and assess all kind of surgical and interventional skills. During the second act, brainstormed actions are analysed and participants are asked to think of potential means for implementing them.

Results: Conclusions are used to identify different actions and means of implementations (affordances) related to skills' learning considering all domains of surgical and interventional knowledge. These actions are key in the definition of the pedagogical needs.

3.4. Step 3: Expert interviews and questionnaires

Setting: based on the results of Step 1, Step 3 seeks to validate the conclusions obtained from the brainstorming sessions in two ways:

- **Expert interview:** each clinical partner site conducts an open interview with a relevant expert, based on the workshop conclusions. The structure of the interview is semi-flexible: the Consortium agrees on general topics to be covered by interviewers, but leaves the specific questions to their own criteria.
- **Questionnaire:** a questionnaire, agreed upon Consortium partners, is disseminated amongst surgeons and residents via email.

Results: Conclusions of the questionnaires will be key in defining the user model.

4. Results and discussion

In this section, we summarize the results concerning the first three steps of the KE process (Step 0 – Step 2), leading to the definition of a list of potential actions and means of implementation.

4.1. Step 0: 1st Consortium brainstorm

The 1st Consortium Brainstorm took place in Valencia (Spain) on December 19th, 2017. Several topics were raised, along with questions pertaining pedagogical and technological considerations for the LMS (*Table 1*).

Topic	Relevant questions
Skills	What specific skills are important?
Tracking/ Monitoring	How do we define student progress? What specific items measure progress per skill? What parameters are important to monitor progress?
Specialties	Should specialty be included as a field of the user model?
Target audience	Who are the target users in the EASIER product?
Curricular playlists	How is course control access going to be handled? Can users upload external courses?
Expertise	How do we define surgical expertise?
Profiles	How many user profiles will the platform have?
Assessment	How are we going to integrate heterogeneous assessment items from different systems?
Centralized CV	How do we define the structure of a potential CV?
Onsite courses	Does it make sense to follow a blended learning approach? To what degree?
Scoring system	How do we set/define proficiency criteria?
Certification	How can we ensure the quality of external courses being uploaded to the platform? How to ensure the quality of internal courses?

Table 1: 1st Consortium brainstorm: results

4.2. Step 1: Workshops

Workshops were carried out in 3 clinical sites (Bucharest, Budapest, Cáceres) following the schedule in *Table 2*.

Partner	Date	Number/Rank of participants
MEDIS (RO)	07/03/2018	5 Experts (General surgery)
DSRT-SU (HU)	20/03/2018	5 Experts (Surgery)
CCMIJU (ES)	19/03/2018	3 Experts (2 Laparoscopy, 1 endoluminal therapy)

Table 2: Brainstorm timetable

Table 3 provides an overview of the brainstorm sessions in terms of the topics addressed at the different sites. Sessions were in principle established to allow the free flow of ideas. Nevertheless, it was decided that the topics featured in Step 0 should be used to scaffold the discussion. Amongst these, several were voted by partners to be key topics that should be featured at some point of the session:

- **Development of skills:** learning-teaching process
- **Tracking/monitoring of skills:** tracking progress
- **Assessment of skills:** measuring current level.

Topic	Key topic	CCMIJU	DSRT-SU	MEDIS
Skills	X	•	•	•
Tracking/Monitoring	X	•	•	•
Specialties		•	•	•
Target audience		•		
Curricular playlists				
Expertise			•	•
Profiles		•		
Assessment	X	•	•	•
Centralized CV				•
Onsite courses				•
Scoring system		•	•	
Certification		•	•	•

Table 3: Topics addressed per session (indicated by •).

4.3. Step 2: 2nd Consortium brainstorm

The 2nd Consortium Brainstorm took place in Budapest (Hungary) on June 14th, 2018, and yielded a list of actions, sorted in *Table 4-Table 6* according to key topics.

Actions	
Engaging in simulation for basic skills	Elaborating a presentation about a lecture
Engaging in simulation for non-basic skills	Searching for information about a topic
Engaging in teamwork simulation	Contributing to a database
Engaging in a serious game	Comparing use cases
Engaging in a team serious game	Receiving a practical demonstration
Engaging in role playing	Attending a procedure
Performing by trial and error	Watching 3D models
Practicing real tasks (supervised)	Listening to audios
Practicing real tasks (unsupervised)	Studying use cases
Practicing basic skills in animal model	Studying a document
Practicing procedural skills in animal model	Attending a lecture/webinar
Practicing step by step exercises	Watching a video
Proposing solutions to a complication	Reading a document
Taking a knowledge test	Social gathering with experts
Making a summary of an action/activity	Social gathering with peers
Presenting a case study	Using social networks
Writing an essay	Video conferencing with experts
Participating in a brainstorm session	Engaging in a discussion with a tutor
Giving a lecture	Engaging in a group discussion
Writing a report	Performing teamwork (other than simulations)
Making a checklist about a procedure	Rotations and internships

Table 4: Actions related to development of skills

Actions	
Engaging with interactive videos (e.g. ordering steps of a procedure, MCQ...)	Being briefed about an example
Receiving objective feedback	Being debriefed about an example
Receiving peers' subjective feedback	Rating quality of example
Receiving tutors' subjective feedback	Giving feedback to peers

Table 5: Actions related to monitoring of skills

Actions	
Assessing own physical and mental health condition	Receive automated advice about actions or activities
Receive advice by a tutor about actions or activities according to own profile	Rating satisfaction with an action or activity

Table 6: Actions related to assessment of skills

As stated earlier, actions provide an intermediate step in the definition of pedagogical needs. Having a pedagogical profile for each action allows considering the ways in which that action contributes to the learning process.

Conversely, a particular action, given its pedagogical profile or mapping, requires certain conditions and tools to be carried out in that specific manner. For example, enabling to engage with a simulation will need different tools depending on whether this action has a more individual or social profile. In this sense, *Table 7* presents some of the most relevant implementation means (affordances) brainstormed. Whilst not all of these will be implemented, they will serve as a useful guideline when mapping actions to tools in the EASIER platform.

Potential means of implementation (affordances)	
Learning:	wikis, glossaries, document upload, suggested readings/videos, VR simulators, box trainers, augmented interactive videos, video editing tools, virtual environments, self/peer/objective assessment mechanisms, search mechanisms, repositories, MOOCs, guidelines & protocols, communication mechanisms (mailing, chat, streaming, videoconference, social media) ...
Monitoring:	notifications, agenda, feedback mechanisms, rating mechanisms, portfolios, personalised lists, recommendation...
Assessment:	Quiz, assignments, gamification mechanisms (e.g. competitions, badges), scores on simulators (VR/box trainers) ...

Table 7: Implementation means (selection)

The pedagogical validation of these actions through the mapping allows conforming a list of derived pedagogical needs that match the orientation of each action within the three axes of the model. *Table 8* presents an example on how precisely these needs will be defined.

Action	Mapping	Means of implementation	Pedagogical needs
Watching a video	Ind - Soc	- Augmented interactive videos	- Course creators should be able to create, edit and upload didactic videos into the platform.
	X-----	- Video editing tools	- Users should be able to watch and interact with videos.
	Inf - Exp		
	--X-----		
	Ref - Non		
	--X-----		

Table 8: Definition of pedagogical needs (example). Actions are mapped (X) according to the 3 dimensions (represented by the dashed lines) of the pedagogical model (individual – social; reflective – nonreflective, information – experience) [6]

One of the strengths of EASIER with respect to other initiatives such as the FLS and LSS lies in the fact that the underlying pedagogical model is known and public. This is a clear statement to our commitment to standardization of MIS learning in Europe, encouraging others to adopt it and generate comparable evidence that can be used regardless of the residents’ origin. This may be useful in favouring resident mobility and knowledge exchange.

The greatest challenge of EASIER lies within its own conception. EASIER fully embraces the holistic role of TEL in MIS education and proposes a learning/assessment paradigm based on it. Resistance to change may be difficult with respect to established methodologies. Thus, along with a careful design of the LMS involving surgeons, a thorough validation with 150 residents/experts approached by clinical partners will be carried out during the last year of the project.

5. Conclusions

The field of learning sciences is an interdisciplinary one, and a pedagogically sound learning environment needs to be built upon evidence-informed criteria that come from among others (1) scientific research on cognitive, developmental, educational and social psychology, pedagogy and sociology of education, (2) professional expertise on those areas and on IT and learning technology, and (3) field-specific knowledge. Therefore, gathering every pedagogical need for a field such as surgery requires input from clinical, educational and technical experts. The KE process aims to fulfil this by bringing together the appropriate expertise from the EASIER Consortium in surgery, higher education, technology and educational psychology. Results presented in this study draw from them all to ensure that they provide evidence-informed guidelines for the construction of the EASIER LMS.

Acknowledgements

Project EASIER (588404-EPP-1-2017-1-ES-EPPKA2-KA) is funded with support from the European Commission. This publication reflects the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.

References

- [1] Brunckhorst O, Khan MS, Dasgupta P, Ahmed K. Nontechnical skill training and the use of scenarios in modern surgical education. *Current Opinion in Urology*, vol 27, sup 4, 2017, 330–336.
- [2] MacRae HM, Satterthwaite L, Reznick RK. Setting up a Surgical Skills Center. *World J Surg*, vol 32, 2008, pp 189–195.
- [3] Ritter EM, Scott DJ. Design of a Proficiency-Based Skills Training Curriculum for the Fundamentals of Laparoscopic Surgery. *Surg Innov* vol 14, 2007, pp 107–112.
- [4] Buzink S, Soltes M, Radonak J, Fingerhut A, Hanna G, Jakimowicz J Laparoscopic Surgical Skills programme: preliminary evaluation of Grade I Level 1 courses by trainees. *Videosurgery other miniinvasive Tech* vol 7, 2012, pp 188–92.
- [5] Zendejas B, Ruparel RK, Cook DA. Validity evidence for the Fundamentals of Laparoscopic Surgery (FLS) program as an assessment tool: a systematic review. *Surg Endosc*, vol 30, 2016, pp 512–520.
- [6] Conole G, Dyke M, Oliver M, Seale J Mapping pedagogy and tools for effective learning design. *Computers & Education*, vol 43, sup 1, 2004, pp 17-33
- [7] Oropesa I, Chmarra MK, Våpenstad et al. A pedagogically-supported TEL solution for learning nontechnical minimally invasive surgical skills across Europe. *Actas del XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, Barcelona, 2014.
- [8] Conole G, Dyke M. What are the affordances of information and communication technologies? *ALT-J* vol 12, sup 2, 2004, pp 113-124.
- [9] Osborn AF. Applied Imagination. Principles and Procedures of Creative Thinking. Charles Sobner’s Sons, 1957 (ISBN: 9781447480723).

Biomateriales

Miércoles, 21 de noviembre

Peptide coated poly(ϵ -caprolactone) generates antifouling surfaces for medical devices

E. Sanchez-Rexach¹, S. Nir², M. Reches², J.R. Sarasua¹

¹Department of Mining-Metallurgy Engineering and Materials Science, POLYMAT, University of the Basque Country (UPV/EHU), School of Engineering, Bilbao, Spain, evagloria.sanchez@ehu.eus

²Institute of Chemistry and the Center for Nanoscience and Nanotechnology, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israel, meital.reches@mail.huji.ac.il

Abstract

Medical devices inserted into an organism are suspected to the growth of bacteria on their surface to form biofilm. Biofilm can sometime resist antimicrobial treatments. Therefore, implant-associated infections cannot always be treated in an effective way with antibiotics, and in the majority of cases, the only way to fight the infection is to remove the implant. This event poses a public health problem, being crucial to find new strategies to face this serious issue. A promising approach to prevent biofilm formation on medical devices is by inhibiting the adhesion of bacteria to the surface using a coating that avoids bacterial attachment on surfaces, i.e., an antifouling coating. In this work, we used a fluorinated tripeptide that prevent biofilm formation to coat the biopolymer poly(ϵ -caprolactone) (PCL). A polymer suitable for making biodegradable medical devices. Our results show that PCL coated with this tripeptide reduced the amount of bacteria by ~50% when compared to bare PCL. This newly developed PCL can be useful for the formation of catheters, as well as of tissue engineering scaffolds.

1. Introduction

Invasive medical devices are widely used for diagnostic and therapeutic purposes in most medical specialties. Infectious risk is one of the most frequent complications related to the use of medical devices such as orthopedic or cardiac prostheses, and vascular or urinary catheters [1]. Bacteria colonize the surface of the foreign material forming a well-defined network called biofilm, which is extremely resistant to antibiotics [2]. Hence, the replacement of the contaminated device is often the only way to treat the infection. It is a proven fact that medical device-related infections are a public health concern and an economic burden [3].

Biofilm formation is an important strategy of bacteria to survive in adverse environmental conditions. This process consists of different stages: reversible attachment, irreversible attachment, microcolony formation, maturation and dispersion [1]. Therefore, when a medical device is contaminated with bacteria, the microorganisms must adhere to the implant enough time so that the settlement is irreversible to form the biofilm [4]. Once adhered, microorganisms duplicate and develop as microcolonies over the entire surface. That being said, a promising strategy for avoiding infections on implants is the development of antifouling surfaces that prevent the initial bacterial adhesion [5].

Here, we combined the versatility of a biodegradable material with a new antifouling coating that will reduce the attachment of bacteria on the surface. The main advantage of using biodegradable medical devices is that they do not need to be removed after finishing their service, as they can be absorbed or excreted by the body. In this way, the tissue surrounding can return to its original state, and a follow-up surgery is avoided. Consequently, the combination of a biodegradable polymer with an antifouling coating will be a great advance in materials for making medical devices that prevent infections [6].

Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) is a semicrystalline polyester widely used in biomedical applications due to its biodegradability, biocompatibility, and good mechanical properties. Its degradation can last from several months to years, making it suitable for long-term biomedical applications [7]. On the other hand, the antifouling compound under study consists on a low-molecular weight tripeptide, which design allows its spontaneous adsorption onto any kind of substrate, as well as the creation of surfaces with anti-adhesive properties [8]. Due to the insertion of the amino acid 3,4-dihydroxyl-L-phenylalanine (DOPA), a key compound in the formation of mussel adhesive proteins, the peptide has the ability to attach to different surfaces [8,9]. In addition, the fluorine atom on each of the benzene rings provides the antifouling character to the peptide (see Figure 1).

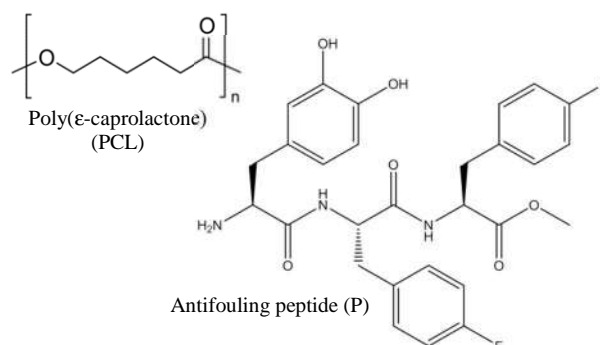


Figure 1. Chemical structures of PCL and Peptide

Taking everything into consideration, the coating of PCL with a new rationally designed antifouling peptide would lead to the development of innovative antifouling materials for medical applications.

2. Coating of PCL films with antifouling peptide

PCL films with a thickness of 100 μm were obtained by casting PCL from tetrahydrofuran (THF) solutions at room temperature. Then, square samples of PCL (1 cm^2) were immersed into an alkaline aqueous solution of the peptide at different concentrations (0.1 mg/mL , 0.2 mg/mL , 0.5 mg/mL , 1 mg/mL , 2 mg/mL , and 4 mg/mL) for 2 hours (see Figure 2). It should be noted that when the solution reached a pH around 8.5, the initially transparent solution changed to a suspension composed by floating white aggregates. Afterwards, the coated films were rinsed extensively with distilled water and dried in a vacuum oven. The catechol groups of the peptide enabled its immobilization on the PCL surface by a simple dipping process under alkaline conditions [9].

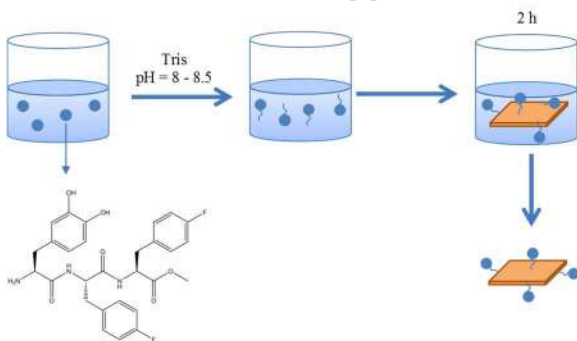


Figure 2. Schematic illustration of the spontaneous coating of the PCL films when they are immersed in the peptide solution

3. Surface characterization

3.1. Transmission Electron Microscopy (TEM)

Transmission Electron Microscopy (TEM) images were recorded to analyze the coverage of the peptide on the polymeric surface (see Figure 3).

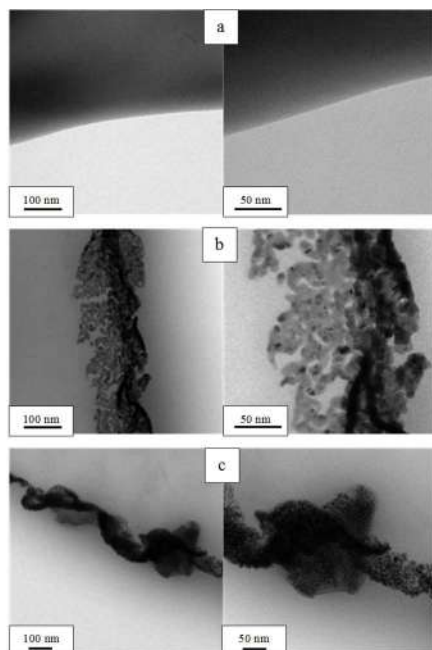


Figure 3. TEM images of the peptide on PCL films: (a) bare PCL, (b) PCL coated with a peptide solution of 0.1 mg/mL , and (c) with a peptide concentration of 0.2 mg/mL

3.2. Contact angle measurements

The bacterial adhesion on a surface is a key factor in biofilm formation. Actually, hydrophobic surfaces can reduce the contact with bacteria, limiting the bacterial attachment which forms the biofilm [10]. A surface is considered hydrophobic with a contact angle greater than 90° , whereas below 90° a surface is hydrophilic. With the aim of studying the hydrophobicity of the samples, contact angle measurements were performed onto surfaces of bare PCL and peptide-coated PCL with varying concentrations (0.5 mg/mL , 1 mg/mL and 2 mg/mL), using a Drop Shape Analyzer. The modified substrates exhibited a slight increase in the contact angle, and therefore, a slight increase in hydrophobicity as the peptide concentration increased (see Figure 4). The addition of fluorine atoms contained in the antifouling coating restricted the contact between the surface and water.

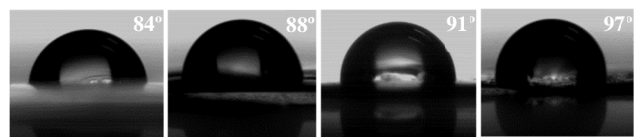


Figure 4. Contact angle measurements of PCL, and superficially modified PCL surfaces after dip coating in different peptide solutions: (a) PCL, (b) PCL coated with a peptide solution of 0.5 mg/mL , (c) 1 mg/mL , and (d) 2 mg/mL

3.3. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)

X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) revealed the presence of nitrogen and fluorine atoms on the PCL surfaces and verified the presence of the peptide (see Figure 5 and Table 1).

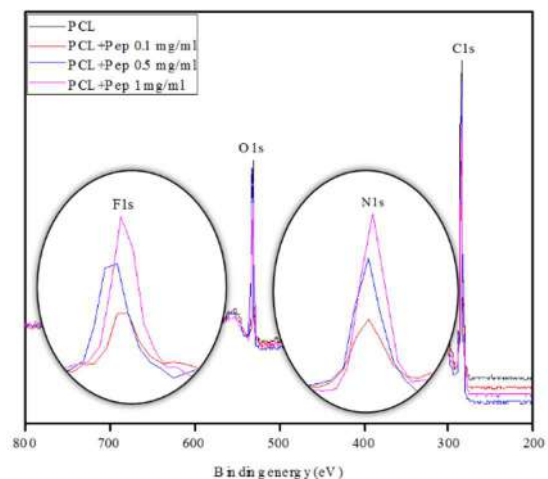


Figure 5. XPS spectra of bare PCL (black), PCL coated with a peptide solution of 0.1 mg/mL (red), 0.5 mg/mL (blue), and 1 mg/mL (pink)

PCL+Pep	0	0.1	0.5	1
mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
% C	80.8	77.7	75	72.2
% O	19.2	17.6	18.2	17.2
% N	-	3	4.2	6.4
% F	-	1.7	2.6	4.2

Table 1. Surface elemental composition of PCL films coated with different concentrations of the peptide determined by XPS

The atomic percentage of N and F became higher as the concentration of peptide increased.

3.4. Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR)

Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) spectroscopy also verified the presence of the peptide on the PCL surface. The spectra focused in regions between 3200-3400 cm^{-1} and 1500-1700 cm^{-1} where PCL does not show any band [11].

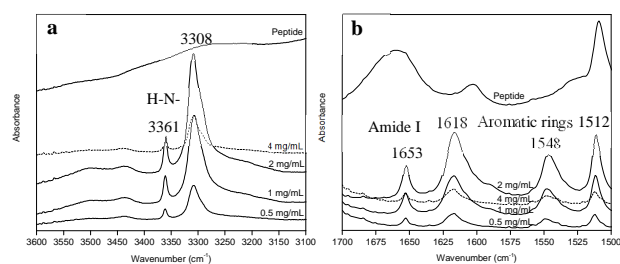


Figure 6. ATR-FTIR spectra of a bare peptide, PCL coated with a peptide solution of 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, and 4 mg/mL. (a) N-H stretching region, and (b) amide I and aromatic rings zone

After coating, new bands appeared at 3361 and 3308 cm^{-1} (see Fig. 6a). These bands can be assigned to the N-H stretching vibrations of the peptide, indicative of the presence of itself on the polymer. In the 1500-1700 cm^{-1} region, the bands at 1653 and 1618 cm^{-1} indicates α -helix and β -sheet structures of the amide I in the peptide, whereas the bands at 1548 and 1512 cm^{-1} represent the aromatic rings (Fig. 6b) [12]. We concluded from the analysis that the optimal concentration of peptide solution for PCL coating was 2 mg/mL (see Figure 6).

In addition, ATR-FTIR showed that the coating is stable in 0.1M PBS solution at 37 °C for 24 h, as the characteristic bands (1512, 1548, 1618, 1653, 3308 and 3361 cm^{-1}) remained the same after one day under these physiological conditions (see Figure 7). This time is enough to resist the initial adhesion of biomolecules and bacterial cells on surfaces, since the first step of biofilm formation (reversible attachment) takes from minutes to hours. In this way, the bacterial accumulation and biofilm formation is prevented.

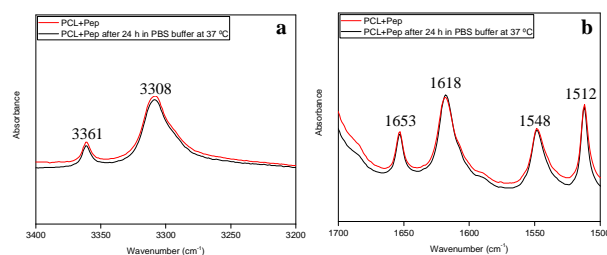


Figure 7. ATR-FTIR spectra of PCL film coated with a peptide solution of 2 mg/mL before immersing the film into 100 mL of PBS buffer at 37 °C (red), and after 24 h into the buffer solution and dried into a vacuum oven (black). (a) N-H stretching region, and (b) amide I and aromatic rings zone

4. Biofilm formation on PCL surfaces coated with antifouling peptide

Bare and peptide-coated PCL films (PCL+P) were incubated overnight at 37 °C in inoculums of *Escherichia coli*, in order to assess the bacterial attachment. Then, bacteria attached during the incubation were removed from the surfaces, diluted and cultured on LB agar plates. After the incubation of the plates, the number of colonies formed was counted. The statistical difference between samples was tested by t-test at a confidence level of 95% ($p < .05$). That being said, a reduction of 47 % was observed in the amount of bacteria on the surface when compared to bare PCL (Figure 8).

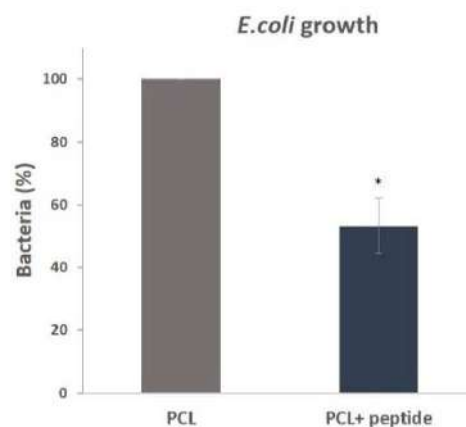


Figure 8. Normalized amount of *E. coli* grown on bare and peptide-coated PCL surfaces

5. Conclusion

Bacterial adhesion to surfaces and subsequent biofilm formation are a leading cause of chronic infections. In this work, a synthetic tripeptide that interferes with the first step of biofilm formation coated films of PCL. The coating forms spontaneously by self-assembly while the amino acid DOPA acts as a glue and attach the peptide to PCL. This is a much simpler strategy compared to other surface coupling methods that require extensive surface modifications and complex reaction steps. TEM, contact angle, XPS and ATR-FTIR verified the presence of the coating on PCL. Furthermore, the coating was stable under physiological conditions for 24 hours, time enough to interfere with the biofilm formation. The peptide-coated PCL reduced the amount of *E. coli* by 47 % on average.

Taken together, this work provide an additional advantage to a biomaterial such as the PCL.

Acknowledgments

The authors are thankful for funds from the Spanish Ministry of Innovation and Competitiveness MINECO (MAT2016-78527-P), the Basque Government, Department of Education, Universities and Research (GIC12/161-IT-632-13), and the EU Ipromedai COST Action TD1305. M.R. acknowledges the support of the Rosetrees Trust.

References

- [1] Percival SL, Suleman L, Vuotto C, Donelli G. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *Journal of Medical Microbiology*, vol 64, 2015, pp 323–334 (ISSN: 0022-2615).
- [2] Sanchez-Rexach E, Meaurio E, Sarasua JR. Recent developments in drug eluting devices with tailored interfacial properties. *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol 249, 2017, pp 181-191 (ISSN: 0001-8686).
- [3] www.cdc.gov/hai/pdfs/hai/scott_costpaper.pdf
- [4] Gu H, Ren D. Materials and surface engineering to control bacterial adhesion and biofilm formation: a review of recent advances. *Front. Chem. Sci. Eng.*, vol 8, sup 1, 2014, pp 20-33 (ISSN: 2095-0179).
- [5] Nir S, Reches M. Bio-inspired antifouling approaches: the quest towards non-toxic and non-biocidal materials. *Current Opinion in Biotechnology*, vol 39, 2016, pp 48-55 (ISSN: 0958-1669).
- [6] Sakala GP, Reches M. Peptide-based approaches to fight biofouling. *Advanced Materials Interfaces*, 1800073, 2018, pp 1-26 (ISSN: 2196-7350).
- [7] Labet M, Thielemans W. Synthesis of polycaprolactone: a review. *Chem. Soc. Rev.*, vol 38, 2009, pp 3484–3504 (ISSN: 0306-0012).
- [8] Maity S, Nir S, Zada T, Reches M. Self-assembly of a tripeptide into a functional coating that resists fouling. *Chem. Commun.*, vol. 50, 2014, pp 11154-11157 (ISSN: 1359-7345).
- [9] Ko E, Yang K, Shin J, Cho SW. Polydopamine-assisted osteoinductive peptide immobilization of polymer scaffolds for enhanced bone regeneration by human adipose-derived stem cells. *Biomacromolecules*, vol 14, 2013, pp 3202-3213 (ISSN: 1525-7797).
- [10] Socrates G. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts, 3 ed., Chichester: John Wiley & Sons, 2001 (ISBN: 978-0-470-09307-8).
- [11] Kumar S, Perikamana M, Lee J, Lee YB, Shin YM, Lee EJ, Mikos AG, Shin H. Materials from mussel-inspired chemistry for cell and tissue engineering applications. *Biomacromolecules*, vol 16, 2015, pp 2541-2555 (ISSN: 1525-7797).
- [12] Phillipson K, Hay JN, Jenkins MJ. Thermal analysis FTIR spectroscopy of poly(ϵ -caprolactone). *Thermochimica Acta*, vol 595, 2014, pp 74-82 (ISSN: 0040-6031).
- [13] Crick CR, Ismail S, Pratten J, Parkin IP. An investigation into bacterial attachment to an elastomeric superhydrophobic surface prepared via aerosol assisted deposition. *Thin Solid Films*, vol 519, sup 11, 2011, pp 3722-3727 (ISSN: 0040-6090).

A comparative study of bioprinting extrusion nozzles geometries

JC. Gómez Blanco¹, E. Mancha Sánchez¹, FM. Sánchez Margallo¹, JB. Pagador Carrasco¹

¹Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España,
{jcgomez, emancha, msanchez, jpagador}@ccmijesususon.com

Abstract

Extrusion bioprinting is an additive manufacturing technology with huge possibilities in the creation of engineered tissues. There are lots of works regarding to this technology and the materials used. Nowadays researches are using computational simulations to study different parameters that can have influence on the cellular survival. In this way we have done Computational Fluids Dynamics (CFD) simulations to check how the extrusion nozzle geometry affects the flow pressure distribution. Results show that variations in geometry will lead to variations in pressure distribution. It is necessary to perform further simulations in future studies with parametric modifications in nozzle geometries to achieve the optimum nozzle geometry which can help cell survive by reducing the pressure.

1. Introduction

Additive manufacturing is a fabrication method created in the 80' and popularised nowadays under the name of 3D printing. This kind of technology works under a simple principle: the creation of an object layer by layer. It means that a certain amount of material is disposed in a defined place in each layer, the consecutive addition of layers creates an 3D object. This fabrication method allows intricate geometry which means the possibility of fabricating objects that conventional manufacturing methods cannot allow.

Bioprinting is the application of 3D printing technologies in health or biology [1-3]. This "type" of 3D printing operates under the same principle as the conventional technology with the particularization of using with cell-laden or cell-compatible materials. Materials used in bioprinting are usually 1) polymers as Polycaprolactone (PCL) or methylcellulose and 2) hydrogels as Alginate or Hyaluronic Acid (HA). In fact, any kind of material can be used for bioprinting as long as they are biocompatible (allow cells to live and proliferate) and biodegradable [4-6]. Many previous works analyse which material is better according to the biological material to be bioprinted [7-9]. In this sense, a proper selection of the biological material is another key point. According to the clinical/medical application different stem cells are used, such as Bone Narrow Stem Cells (BNSCs) in bone scaffolds or Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in cartilage regeneration. Cells are very sensitive and need a proper environment and nutrients to live and proliferate [10]. For this reason, a bioprinter must control, at least, temperature, pressure, CO₂ and pH [11].

Although other deposition methods are possible, maybe the most common techniques used in bioprinting are extrusion, inkjet and laser-assisted [12]. Mainly due to cost-effective reasons, the most used technique is the extrusion-based that deposit biomaterials through a customized nozzle [13]. So, these kinds of bioprinters use extrusion heads that are usually formed by a syringe and a needle or a tapered nozzle (conical tip). It is well described in bibliography that the pressure is one of the most important factors that can provoke a low cell survival [8].

Computational simulations are widely extended in calculation of flows through nozzles [14-15]. However, bioprinting related simulations have still room for improvement with only a few research studies [16-17]. For this reason, CFD in bioprinting technology could provide useful data of material flows and help to select the most appropriate hydrogel for the survival of cells.

Hence, the main objective of this work is to compare the pressure in the tip of the tapered nozzle versus the needle through computational fluid simulation for a biocompatible material.

2. Methods

2.1. Model

Two different models were created and simulated in COMSOL Multiphysics through a 2D axisymmetric model and the Two-Phase Flow (TPF) level set interface. One model is the related to the tapered nozzle and the other is the needle one. The tapered nozzle was modelled by a trapezium of 25 mm of height, 3 mm of the inlet face and 0.2 mm of the outlet face. The needle was modelled by a 15 mm height and 0.2 mm width rectangle and a 2 mm width and 5mm height triangle. The rest of the geometry is the air where the nozzle ejects the material and it is composed by a rectangle and a trapezium.

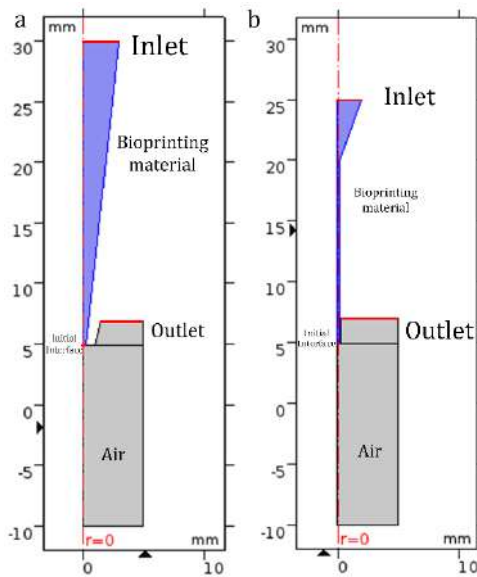


Figure 1. Representation of both models: a) is the tapered nozzle and b) is the needle.

2.2. Governing equations

Level set (LS) method is a transport equation which is added to incompressible Navier-Stokes equations to track the interface of two immiscible fluids, in this case bioprinting materials and air, these equations are:

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} + \rho(u \cdot \nabla)u = \nabla \cdot [-pI + \mu(\nabla u + \nabla u^T)] + F + \rho g$$

$$\nabla \cdot u = 0$$

where, ρ is the density, u is the speed of the fluid, p denotes the pressure, I is the identity matrix, F is all other external forces and g is the gravity force.

In the level set equation, the bioprinting material is expressed by $\phi = 0$, the air is expressed by $\phi = 1$ and the contour lines of level set is expressed by $\phi = 0.5$. The level set equation can be seen as the volume percentage of water in the gas-liquid two-phase flow [18]. Therefore, the migration equation of the gas-liquid interface can be written as follows:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \cdot \nabla \phi = \gamma \nabla \cdot \left(\epsilon_{ls} \nabla \phi + \phi(1 - \phi) \frac{\nabla \phi}{|\nabla \phi|} \right)$$

where ϕ is the contour line of the interface of the gas-liquid two-phase flow, γ is the reinitialization parameter to solve the equation, ϵ is the interface thickness controlling parameter. Here, bioprinting material corresponds to the domain where $\phi < 0.5$, and air corresponds to the domain where $\phi > 0.5$.

2.3. Domains

In this model, two different domains were considered. The first domain is related to the nozzle where the hydrogel is placed, and the second domain is the outside of the nozzle,

the air where the biological material is ejected. The material used for the simulation is a mixture of Alginate (1%) and Gelatine (10%) which has a density of 1455.08 kg/m^3 and a viscosity of $0.83 \text{ Pa} \cdot \text{s}$. To make possible a flow, an inlet was placed in the top part of the nozzle with a value of 1 mm/s . Also, an outlet condition was set at the top part of the air domain to allow bioprinting material to fill this domain and air to leave. An initial interface boundary condition was placed at the end of the nozzle to define a boundary where the fluid (hydrogel) finishes and the air starts.

2.4. Mesh

A 2D triangular mesh was created for the simulations of each model. For better simulations an adaptative mesh refinement was set as can be seen in Figure 2. This creates multiple meshes for segments of the time-dependent simulation. For the tapered nozzle model, the initial triangular mesh has 2892 triangular elements, while the remeshing raise the number of elements up to 5102 in the zone where the interface between both materials is placed. For the needle model, mesh has 2242 triangular elements and as the previous model remeshing raise the number of elements up to 4138.

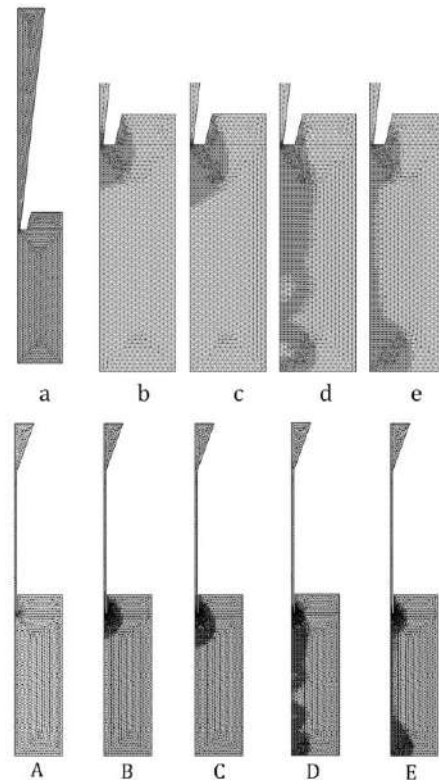


Figure 2. Original mesh (a, A) and mesh refinement procedure during the simulations. Lower-case letters correspond to the tapered nozzle model and capital letters correspond to the needle.

2.5. Simulation

A 1.5 s simulation, using a 5 ms step, for each model was carried out, composed of two study steps, Phase Initialization and Time Dependent. The Phase Initialization

step solves for the distance to the initial interface $>$, D_{wi} . Then the Time Dependent step uses the initial condition for the level set function according to the following expression:

$$\phi_0 = \frac{1}{1 + e^{D_{wi}/\epsilon}}$$

in domains initially filled with bioprinting material and:

$$\phi_0 = \frac{1}{1 + e^{-D_{wi}/\epsilon}}$$

in domains initially filled with air.

For Phase Initialization step a stationary solver was used. A fully coupled solver with a linear direct PARDISO method and a Newton non-linear method was used. For the Time Dependent step a time-dependent solver was used with the non-linear method with a constant Newton damping factor, in this case 1.

3. Results and Discussion

3.1. Fluid Volumetric Fraction

The amount of each material is represented by the fluid volumetric fraction. Values 1 means that the 100% of the material is composed by a certain material (not air). Therefore 0 values mean that all the material is air. Figure 3 shows the drop formed at 0.695 s of the simulation done with the tapered nozzle. This time is the first moment when a drop is form and the last moment when the drop is still attached to the nozzle. The interface between the material and air is defined in the figure with a fluid fraction volume of 0.5.

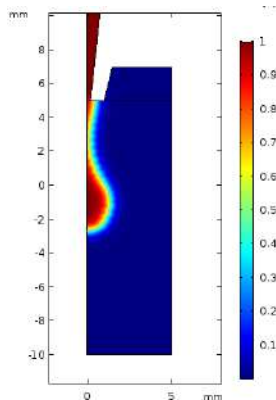


Figure 3. Fluid Volumetric Fraction of tapered nozzle model in 0.695 s.

In the total time of tapered nozzle simulation (1.5 s) two drops are formed and felt down.

Figure 4 shows the drop formed at 0.47 s of the simulation done with the needle. At the end of this simulation (1.5 s) four drops where formed but only three of them felt down.

It is clear that the shape of the nozzle has impact on the formation of the drop. In this case, not only the size of the nozzle modifies the drop formation, but the width of the wall affects the size of the drop that can be attached to the needle. Needle has a small wall width (0.15 mm) against the wall of the nozzle (0.8 mm) so, the drop has less contact surface to get attached to, reducing the material needed to fall. In these simulations only drops are formed, meanwhile, when bioprinting a continuous flow is used.

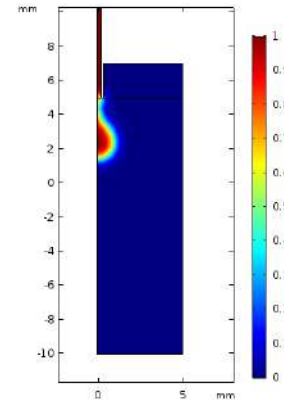


Figure 4. Fluid Volumetric Fraction of needle model in 0.47 s.

3.2. Pressures

Pressure plot obtained in the simulations is showed in Figure 5 for both model, the tapered nozzle and needle. These pressures are the obtained at the outlet of the nozzle where the biomaterial leave the nozzle and reach the air. In the nozzle maximum pressure obtained is 105,7 kPa also, it can be seen two losses of pressure corresponding to the moment when the drops felt. In this case only two drops are released from the nozzle. In the needle model the maximum pressure level obtained is 102,6 kPa. In this case, three drops felt. Comparing the pressures from both model it is noted that in the tapered one the pressure is slightly higher than in the needle one.

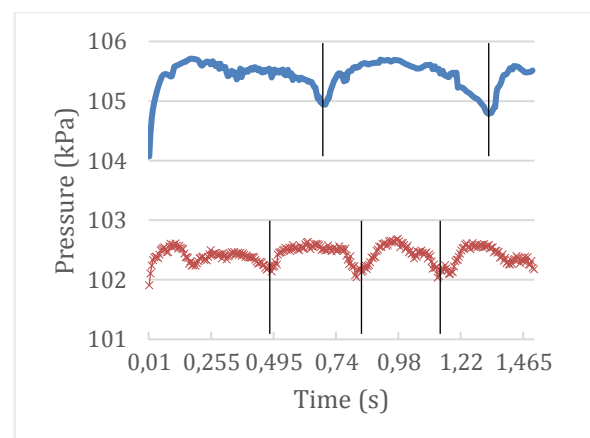


Figure 5. Pressure plot of both models. Blue line corresponds to the tapered nozzle, red crosses correspond to needle. Vertical lines show where drops are formed.

Figure 5 shows the pressure at the outlet, but this is not the place where the pressure is maximum on the needle model. The place where the pressure is higher is the beginning of the straight part of the needle as it can be seen in Figure 6. This pressure is three times higher than in the outlet

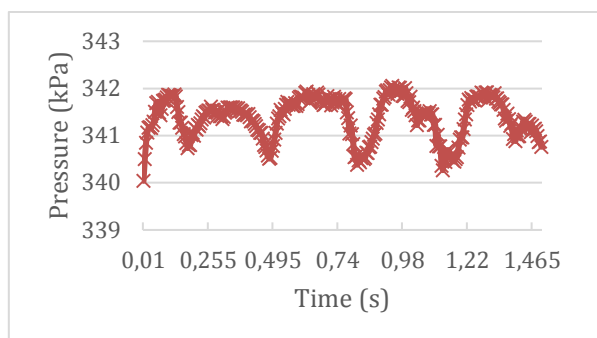


Figure 6. Pressure plot of straight interface of the needle.

This study only shows a small time of the whole bioprinting process, longer simulation is required to see how pressure changes along the time. Also, it is needed to study the shear stress on the biomaterial during the extrusion to see if it reaches values that can endanger cellular viability.

4. Conclusions

In this work different computational simulations of the flow of a bioprinting material through two different extrusion bioprinting nozzles have been done. We have checked two important facts, 1) variations on the nozzle geometry provoke a variation in pressure at the tip and 2) Inner geometry of the extrusion nozzle must be studied further due to high pressure changes.

To have a better understanding of the pressure variations in different geometries it is necessary to perform future simulations with parametric modifications in nozzle geometry. Also, it is required to obtain a continuous flow not only a single drop to perform a more realistic simulation of the bioprinting process. Huge amounts of data from simulation will allow to obtain the optimum nozzle tip for a determined bioprinting material and cell used attending to pressure distribution.

Acknowledgements

This work was supported by Consejería de Economía e Infraestructuras, Junta de Extremadura. Project number IB16200 “Optimización y mejora de técnicas de bioimpresión para regeneración de cartílago y prótesis vasculares”.

References

[1] H.-W. Kang, J. J. Yoo, and A. Atala, “Bioprinted Scaffolds for Cartilage Tissue Engineering,” *Cartilage Tissue Engineering: Methods and Protocols*, vol. 1340, pp. 981–995, 2015.

- [2] Y. D. Hesuan et al., “Design and Implementation of Novel Multifunctional 3D Bioprinter,” *3d Printing and Additive Manufacturing*, vol. 3, no. 1, pp. 65–68, 2016.
- [3] N. Cubo et al., “3D bioprinting of functional human skin: production and in vivo analysis,” *Biofabrication*, vol. 9, no. 1, p. 015006, 2016.
- [4] E. M. Ahmed, “Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review,” *Journal of Advanced Research*, vol. 6, no. 2, pp. 105–121, 2015.
- [5] Y. He et al., “Research on the printability of hydrogels in 3D bioprinting,” *Scientific reports*, vol. 6, p. 29977, 2016.
- [6] A. Panwar and L. P. Tan, “Current status of bioinks for micro-extrusion-based 3D bioprinting,” *Molecules*, vol. 21, no. 6, 2016.
- [7] J. Kim et al., “Current status of threedimensional printing inks for soft tissue regeneration,” *Tissue Eng Regen Med* (2016) 13: 636.
- [8] L. Ning and X. Chen, “A brief review of extrusion-based tissue scaffold bio-printing,” *Biotechnology Journal*, vol. 12, no. 8, 2017.
- [9] I. T. Ozbolat and M. Hospodiuk, “Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting,” *Biomaterials*, vol. 76, pp. 321–343, 2016.
- [10] B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, fifth edit ed., M. Anderson and S. Granum, Eds. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, 2008, (ISBN: 978-0-8153-4111-6).
- [11] Y. Zhao et al., “The influence of printing parameters on cell survival rate and printability in microextrusion-based 3D cell printing technology,” *Biofabrication*, vol. 7, no. 4, pp. 1–11, 2015.
- [12] F. Pati et al., Chapter 7- Extrusion bioprinting, *Essentials of 3D Biofabrication and Translation 2015* (ISBN 9780128009727).
- [13] I. T. Ozbolat, K. K. Moncal, and H. Gudapati, “Evaluation of bioprinter technologies,” *Additive Manufacturing*, vol. 13, pp. 179–200, 2017.
- [14] W. Yuan and G. H. Schnerr, “Numerical Simulation of Two-Phase Flow in Injection Nozzles: Interaction of Cavitation and External Jet Formation,” *Journal of Fluids Engineering*, vol. 125, no. 6, pp. 963–969, jan 2004.
- [15] S. Zekovic, R. Dwivedi, and R. Kovacevic, “Numerical simulation and experimental investigation of gas–powder flow from radially symmetrical nozzles in laser-based direct metal deposition,” *International Journal of Machine Tools and Manufacture*, vol. 47, no. 1, pp. 112–123, jan 2007.
- [16] J. A. Reid et al., “Accessible bioprinting: adaptation of a low-cost 3D-printer for precise cell placement and stem cell differentiation,” *Biofabrication*, vol. 8, no. 2, p. 025017, 2016.
- [17] W. Martanto et al., “Fluid dynamics in conically tapered microneedles,” *AIChE Journal*, vol. 51, no. 6, pp. 1599–1607, 2005.
- [18] COMSOL Multiphysics, “Theory for the Two-Phase Flow Interfaces - CFD Module User’s Guide,” *Manual*, p. 620, 2014.

Neuroingeniería

Jueves, 22 de noviembre

Aplicabilidad de Leap Motion Controller para el tratamiento de los déficits motores en pacientes tetraplégicos

A. de los Reyes Guzmán¹, M. Salas Monedero³, V. Lozano Berrio¹, M. Alvarez Rodríguez¹, S. Ceruelo Abajo², A. Gil Agudo²

¹Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Paraplégicos, Toledo, España, {adlos,vlozanob}@sescam.jccm.es, maalvarezrodriguez@externas.sescam.jccm.es

²Servicio de Rehabilitación, Hospital Nacional de Paraplégicos, Toledo, España, {amgila,sceruelo}@sescam.jccm.es

³Departamento de Actividad Física y Ciencias del Deporte, UCLM, Toledo, España, miriam.salas@alu.uclm.es

Resumen

Más del 50% de las personas con Lesión Medular tienen alterada la función de los miembros superiores, experimentando limitaciones en la realización de tareas funcionales y actividades de la vida diaria. Con el objetivo de asistir a la terapia y/o ayudar al personal clínico en la administración de tareas repetitivas, se han incorporado dentro del entorno clínico dispositivos robóticos, permitiendo aumentar la cantidad de terapia que reciben los pacientes. El elevado coste de estas soluciones obliga a pensar en el uso de otro tipo de tecnologías, de bajo coste y de interacción libre, que ligadas al uso de aplicaciones virtuales se puedan aproximar en el futuro al domicilio del paciente. Sin embargo, estas tecnologías no han sido diseñadas ni desarrolladas para propósitos de rehabilitación. Por eso, este trabajo plantea un estudio como fase de aprendizaje validado en el que 4 personas sanas y 4 pacientes con lesión medular cervical tienen que manipular entornos virtuales por medio de Leap Motion Controller durante 6 sesiones experimentales de 30 min cada una. Los entornos virtuales son los disponibles en la aplicación Playground de Leap Motion, orientados a lograr tareas funcionales. El número de objetos alcanzados fue mayor en los sanos que en los pacientes, pero todos los pacientes pudieron manipular las aplicaciones virtuales. Estos resultados indican que este dispositivo parece ser viable para su uso en esta población y motivan el desarrollo de entornos virtuales propios dotados de un sentido terapéutico para pacientes con afectación en la función del miembro superior.

1. Introducción

La pérdida de la función motora es una consecuencia tras una Lesión Medular (LM). La incidencia de la LM varía enormemente desde 12.1 a 57.8 casos por millón dependiendo de los países [1]. Más del 50% de las personas con LM tienen alterada la función de los miembros superiores (MS), experimentando limitaciones en la realización de tareas funcionales y actividades de la vida diaria (AVD). En este contexto, uno de los objetivos de la rehabilitación es lograr el máximo nivel de independencia del paciente en la realización de actividades de la vida diaria [2,3].

La terapia tradicional que recibe el paciente se centra en la manipulación de dispositivos físicos basados en la repetición de determinados movimientos funcionales, orientados a cumplir una función u objetivo, relacionados con los movimientos de alcance y agarre y ejecución de gestos relacionados con AVD. Durante el transcurso de

una terapia estas tareas se convierten en monótonas para el paciente, disminuyendo la motivación y adherencia a la terapia, y carecen de un elemento que valore de forma objetiva los progresos del paciente durante el tratamiento.

Por otro lado, con el objetivo de asistir a la terapia y/o ayudar al personal clínico en la administración de tareas repetitivas, se han incorporado dentro del entorno clínico soluciones tecnológicas basadas en exoesqueletos o dispositivos robóticos de MS, permitiendo aumentar la cantidad de terapia que reciben los pacientes [4-7]. Las soluciones terapéuticas basadas en este tipo de dispositivos suelen tener un coste de adquisición muy elevado, que hace que la solución sea adecuada para su uso dentro del entorno hospitalario, pero impide que el proceso rehabilitador se pueda deslocalizar del hospital, allá donde se encuentre el paciente.

Por este motivo, es necesario pensar en el uso de otro tipo de tecnologías, de bajo coste y de interacción libre, que se puedan aproximar en el futuro al domicilio del paciente. Este tipo de soluciones existen y, aparentemente se han aplicado de forma satisfactoria en muestras de pacientes. Todas ellas van ligadas al uso de aplicaciones de Realidad Virtual (RV) con un objetivo terapéutico. Las interfaces de RV proporcionan feedback al paciente, aumentando su nivel de motivación y adherencia a la tarea durante una terapia. Algunas de estas soluciones de bajo coste se han basado en el uso de guantes, el dispositivo Leap Motion o Microsoft Kinect con propósitos rehabilitadores mediante juegos virtuales.

Sin embargo, estas tecnologías, así como muchas de las aplicaciones de RV asociadas, no han sido diseñadas ni desarrolladas para propósitos de rehabilitación. Por esta razón, los nuevos desarrollos y proyectos de investigación usando estas tecnologías, orientados a la rehabilitación de pacientes tras enfermedades neurológicas, ha de ir precedido de una prueba piloto en estas poblaciones. Además, en el caso de la LM estas pruebas son más necesarias si se tiene en cuenta que los estudios en LM son menos frecuentes que en otras patologías neurológicas por tratarse de una patología con menos incidencia en la población.

Experiencias previas con el exoesqueleto de MS Armeo Spring en pacientes con LM sugieren la necesidad de buscar tecnologías que, siendo de bajo coste, se puedan

centrar en el tratamiento específico de la mano. Además, para fomentar la recuperación de la función completa del miembro superior, teniendo en cuenta los elementos proximales y distales de la cadena cinemática, un sistema de RV ideal debería ser capaz de capturar la posición y movimiento de la mano, característica que no es posible con la mayoría de las tecnologías existentes. Por ello, este trabajo, incorpora el uso de Leap Motion Controller [8] como elemento de captación de movimiento, que permite capturar los movimientos finos de la mano y de los dedos, mientras se controlan entornos virtuales que requieren coordinación como parte de la práctica con tareas virtuales.

Así, el objetivo de este trabajo es realizar una fase de aprendizaje validado en una pequeña muestra de pacientes con LM cervical para analizar la viabilidad de aplicar esta tecnología al tratamiento funcional del MS en pacientes con tetraplejia y conocer el nivel de aceptación del paciente en cuanto a esta tecnología.

2. Métodos

2.1. Participantes

Esta fase de aprendizaje validado se ha realizado en una muestra de 4 personas sanas y 4 pacientes con LM cervical que presentan afectación de la función del MS. Las características clínicas y funcionales de los pacientes se muestran en la Tabla 1. Todos los participantes firmaron el correspondiente consentimiento informado. La clasificación de los pacientes se hizo mediante exploración neurológica en el aspecto motor y sensitivo. Además, se obtuvo el Índice Motor del brazo analizado teniendo en cuenta los músculos clave del miembro superior en el paciente tetrapléjico. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica.

Paciente	Edad	Sexo	Lesión	ASIA	Etiología	IM
P1	30	M	C8	C	Trauma	21
P2	48	M	C4	D	Trauma	11
P3	26	F	C5	B	Trauma	11
P4	32	M	C8	D	Trauma	24

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con LM cervical incluidos en el estudio

2.2. Leap Motion Controller

El controlador de movimiento Leap Motion (LMC; Leap Motion, Inc., San Francisco, CA, USA) es un dispositivo diseñado para controlar aplicaciones mediante gestos de la mano [8]. Consta de tres sensores emisores de luz infrarroja y dos cámaras. Es un dispositivo pequeño y rectangular (13 mm x 13 mm x 76 mm) que pesa 45 g. Se trata de un sistema de captura óptico que, a través de sus algoritmos internos, ofrece la posición en el espacio cartesiano de objetos predefinidos como las manos y los dedos. Las posiciones medidas son relativas respecto al origen de LMC, situado en la posición del segundo sensor infrarrojo. La precisión de LMC es de 0,2 mm en condición estática [9]. El dispositivo se conecta al ordenador vía USB y es compatible con Mac y Windows. En este trabajo se utilizó un ordenador con procesador i7, 12 GB de RAM y tarjeta gráfica dedicada, trabajando bajo

Windows 10. Algunos dispositivos, como Microsoft Kinect, pueden capturar amplios rangos de movimiento del cuerpo. Sin embargo, LMC captura el movimiento de las manos y, por tanto, es más viable para trabajar movimientos finos del miembro superior y la función de la mano. La Figura 1 muestra un paciente controlando una aplicación de realidad virtual mediante Leap Motion.



Figura 1. Un paciente controla la aplicación de Realidad Virtual mediante Leap Motion (Leap Motion Inc.)

2.3. Intervención mediante aplicaciones virtuales basadas en LMC

Todos los participantes realizaron las sesiones experimentales en sedestación frente a una mesa regulable en altura. Los pacientes lo realizaron en su propia silla de ruedas. La altura de la mesa se adaptó en cada caso de forma que el codo, apoyado sobre la mesa, estuviera flexionado 90°. El sensor se ubicó entre el sujeto y el ordenador, a una distancia que permitiera que la mano quedase sobre el sensor con el antebrazo apoyado sobre el borde de la mesa o sobre el reposabrazos de la silla de ruedas y evitando la realización de movimientos de compensación de tronco. Se analizó el brazo dominante.

El estudio experimental consiste en una fase de aprendizaje validado en la que cada participante realiza 3 sesiones/semana durante dos semanas, de aproximadamente 30 min cada. La intervención consiste en manipular entornos virtuales mediante el LMC que permite la captación de la posición y movimiento fino de la mano y los dedos.

Para este estudio de viabilidad se han utilizado dos entornos virtuales disponibles en la aplicación Playground de LMC. Una de ellas es “Petal-picking game” que permite trabajar las habilidades motoras relacionadas con la ejecución de pinzas mediante la tarea de arrancar pétalos en el entorno virtual. Permite trabajar la destreza y coordinación de los dedos. La otra aplicación es “Robot-assembly game” que permite trabajar un agarre más grosero de los dedos involucrando el movimiento de pronación-supinación del antebrazo. Cada participante realizó sesiones de 15min con cada aplicación virtual.

2.4. Variables analizadas

Se obtuvo la estadística descriptiva (SPSS 17.0 para Windows) con intervalo de confianza del 95% para los dos grupos analizados, sanos y pacientes con LM cervical. Se ha utilizado el test de Kruskal-Wallis para detectar las posibles diferencias entre los dos grupos. Los

resultados se han analizado de forma global, expresando los resultados como la media y desviación estándar dentro de ambos grupos.

Para el análisis de usabilidad se utiliza un formulario utilizado en otros estudios por parte de otros autores [4], puntuando las preguntas de 1 a 7, siendo: 1 “Totalmente en desacuerdo”, 4 “Neutro”, 7 “Totalmente de acuerdo”.

3. Resultados

3.1. Desempeño motor en aplicaciones virtuales

El desempeño motor de los participantes en ambos entornos virtuales se muestra en la Tabla 2. Dado que siempre hay presente un efecto práctica, se ha optado por mostrar el resultado correspondiente a la última sesión experimental. Se observa que el desempeño motor de los pacientes es menor que en el caso de los sanos, en cuanto al número de objetivos alcanzados se refiere, cubos y pétalos, en ambas aplicaciones virtuales. Concretamente, esto se observa en los pacientes P2 y P3, mientras que los pacientes P1 y P4 tienen un rendimiento motor muy parecido al de los sujetos sanos.

Paciente	Pacientes LM		Sujetos sanos		Sano
	Cubos	Pétalos	Cubos	Pétalos	
P1	44	116	45	104	S1
P2	41	58	32	94	S2
P3	29	60	48	145	S3
P4	52	169	64	164	S4

Tabla 2. Desempeño motor en ambos entornos virtuales durante la última sesión experimental en cada participante

En la Tabla 3 se muestran los resultados en ambos grupos analizados mostrando la media y la desviación estándar de la muestra analizada. En este análisis, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, aun siendo el desempeño motor mayor en el grupo de sujetos sanos. Los resultados en la aplicación virtual petal-picking game están sujetos a mayor variabilidad y se observa que la desviación estándar en el grupo de pacientes es susceptiblemente mayor que en la condición sana.

	Pacientes LM (n=4)	Sujetos sanos (n=4)
Petal picking	100.75 (45.76)	126.75 (28.76)
Robot assembly	41.50 (8.26)	47.25 (11.38)

Tabla 3. Resultados del desempeño motor en ambos entornos virtuales durante la última sesión experimental en cada participante

3.2. Análisis de viabilidad y usabilidad

La viabilidad del estudio piloto ha quedado probada puesto que todos los pacientes pudieron realizar todas las sesiones experimentales.

A continuación, en la Tabla 4 se muestran los resultados correspondientes al estudio de usabilidad y satisfacción del paciente con el estudio experimental realizado.

Los pacientes ven el LMC como un dispositivo fácil de utilizar, que es entretenido en su uso y que lo utilizarían

en su tiempo libre si lo tuviesen disponible. Se cuestiona el nivel de motivación a partir de los escenarios virtuales.

En cuanto a la posible componente terapéutica, lo utilizarían siempre de forma complementaria a los tratamientos convencionales, y consideran adecuada la duración de las sesiones experimentales. Todos ellos lo recomendarían a otro paciente con el mismo nivel y severidad de la lesión.

Formulario	P1	P2	P3	P4
1. LMC es entretenido en su uso	6	7	6	7
2. Es fácil entender cómo usar LMC	7	7	7	7
3. Los juegos aumentan tu motivación para realizar los ejercicios	3	7	4	4
4. ¿Estarías cómodo utilizando LMC con la mínima supervisión de un terapeuta?	7	7	6	6
5. Piensas que el tratamiento con LMC es tan efectivo para rehab como tus sesiones habituales?	5	7	4	5
6. LMC es útil para monitorizar progreso tto.	6	7	7	6
7. La duración de las sesiones es adecuada	7	7	6	7
8. El número de sesiones/semana es adecuado	6	7	6	7
9. Los ejercicios que propone LMC son más relevantes para las AVD que la TC	4	6	4	4
10. Usarías LMC en tu tiempo libre si lo tuvieses disponible	7	7	5	7
11. Prefieres el tto. con LMC frente a la TC	4	4	3	4
12. LMC es adecuado para alguien con tu nivel de lesión	7	7	7	7
13. LMC es adecuado para alguien con tu tipo de lesión (severidad según ASIA)	7	7	7	7

Tabla 4. Formulario para analizar la usabilidad y satisfacción del paciente con el estudio realizado

4. Discusión

Este estudio preliminar sugiere que el dispositivo Leap Motion parece ser viable para su aplicación en pacientes con lesión medular, ya que todos los pacientes pudieron completar las sesiones experimentales programadas. Los entornos virtuales consisten en dos de las aplicaciones Playground disponibles en Application Home al instalar Leap Motion.

Como resultados de este estudio se han presentado aquellos relativos al desempeño motor dentro de las aplicaciones virtuales y los relativos al estudio de usabilidad y satisfacción del paciente. En cuanto al desempeño motor, los resultados mostrados corresponden al número de objetivos alcanzados con éxito. Se observa que el desempeño de los pacientes P1 y P4 es parecido al desempeño del grupo de sujetos sanos. Esto se debe a que estos pacientes tienen una lesión medular cervical muy baja (C8) y además incompleta en los aspectos motor y sensitivo (ASIA C y D), con lo que la función global del miembro superior es muy buena, necesitando trabajar la destreza y habilidad fina de la mano.

Es de especial interés destacar la importancia de los estudios de usabilidad con el objetivo de conocer la verdadera opinión del usuario respecto al uso de una tecnología en concreto. Estos estudios ayudan a conocer y detectar los aspectos que más preocupan o que son prioritarios para los usuarios finales y ayudan, en muchas ocasiones a direccionar las investigaciones futuras. Los participantes manipulan aplicaciones virtuales que fueron diseñadas y desarrolladas con un fin lúdico y puramente de entretenimiento, que carecen de las fuentes de feedback visual que necesita el paciente para ser consciente de su desempeño dentro de la tarea propuesta y de su propia mejoría tras sesiones experimentales sucesivas. Estos entornos virtuales han sido aplicados en pacientes con stroke [10]. En concreto, en el ámbito de este trabajo el estudio de usabilidad proporciona la motivación suficiente para lanzarnos al diseño y desarrollo de entornos virtuales propios, serious games diseñados y desarrollados con un objetivo terapéutico, dotados de las fuentes de feedback necesarias.

Hay que tener en cuenta, que LMC es un dispositivo diseñado y desarrollado con un fin lúdico. Por eso, para un correcto y adecuado uso de LMC en pacientes con afectación de la función del MS, es necesario validar este dispositivo para generar conocimiento acerca de para qué pacientes (características funcionales del MS y de la LM que padecen) está indicado su uso. Hemos podido comprobar que cuando pacientes tienden a mantener el brazo en supinación, dentro de las aplicaciones virtuales LMC asocia la mano derecha del paciente con una mano izquierda en el entorno virtual. Por otro lado, al tratarse de un dispositivo de interacción libre, es necesario que haya una instrucción del terapeuta para un adecuado uso del dispositivo y una correcta ejecución de los movimientos dentro de los entornos virtuales. Éstas son las principales limitaciones del estudio.

Por último, destacar las importantes ventajas que presenta esta metodología. Al no requerir instrumentación del MS del paciente, evita la duplicidad de costes, y es posible centrar los estudios experimentales en población pediátrica y adulta simultáneamente. Además, las tareas propuestas dentro de los entornos virtuales considerados, petal-picking y robot-assembly games, están orientadas a lograr una función concreta, lo que va en sintonía con las directrices terapéuticas.

5. Conclusión

Este estudio preliminar sugiere que el dispositivo Leap Motion parece ser viable para su aplicación en pacientes con LM cervical.

La experiencia de realizar este estudio experimental piloto ha sido muy positiva y motiva el diseño y desarrollo de entornos virtuales propios, serious games diseñados y desarrollados con un objetivo terapéutico, dotados de las fuentes de feedback que necesita el paciente para ser consciente de su propia mejoría en sesiones experimentales sucesivas.

La posibilidad de desarrollar los nuevos serious games dentro de un entorno hospitalario supone un reto que

permitirá que el desarrollo de los mismos sea realmente iterativo, a base de la realización de pruebas de ensayo y error hasta conseguir las versiones definitivas adaptadas a las necesidades reales de los pacientes con LM cervical.

Este escenario solo será posible con la colaboración de un equipo multidisciplinar que involucre médicos, terapeutas, ingenieros y por supuesto, pacientes desde las fases iniciales del desarrollo.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del Proyecto “Plataforma de bajo coste para rehabilitación del miembro superior basado en Realidad Virtual (RehabHand)” con referencia DPI2016-77167-R financiado por MINECO a través del Programa Estatal I+D+i orientado a los Retos de la Sociedad 2016 y cofinanciado con fondos FEDER.

Referencias

- [1] Van den Berg MEL, Castellote JM, Mahillo-Fernández I, de Pedro-Cuesta J. Incidence of spinal cord injury worldwide: a systematic review. *Neuro Epidemiology*, 34(3), 2010, pp184-192.
- [2] Beninato M, O’Kane KS, Sullivan PE. Relationship between motor FIM and muscle strength in lower cervical-level spinal cord injuries. *Spinal Cord*, 42(9), 2004, pp 533-540.
- [3] Schmitz TJ. Traumatic spinal cord injury. In: Sullivan SB, Schmitz TJ (eds.) *Physical Rehabilitation: Assessment and Treatment*, 4th edn. F.A. Davis Company: Philadelphia, 2001, pp 873–923.
- [4] Zariffa J, Kapadia N, Kramer JLK, Taylor P, Alizadeh-Meghrizi M, Zivanovic V, Steeves JD. Feasibility and efficacy of upper limb robotic rehabilitation in a subacute cervical spinal cord injury population. *Spinal Cord*, 50(3), 2012, pp 220-226.
- [5] Reinkensmeyer DJ, Emken JL, Cramer SC. Robotics, motor learning, and neurologic recovery. *Annu Rev Biomed Eng*, 6, 2004, pp 497-525.
- [6] Kwakkel G, Kollen BJ, Krebs HI. Effects of robot-assisted therapy on upper limb recovery after stroke: a systematic review. *Neurorehabilitation and neural repair*. 2007 (<https://doi.org/10.1177/1545968307305457>)
- [7] Prange GB, Jannink MJ, Groothuis-Oudshoorn CG, Hermens HJ, IJzerman MJ. Systematic review of the effect of robot-aided therapy on recovery of the hemiparetic arm after stroke. *Journal of rehabilitation research and development*, 43(2), 2006, 171.
- [8] Leap Motion Controller. <https://www.leapmotion.com/> (Consultada: 18/07/2018).
- [9] Weichert F, Bachmann D, Rudak B, Fisseler D. Analysis of the accuracy and robustness of the leap motion controller. *Sensors*, 13(5), 2013, 6380-6393.
- [10] Wang Z, Wang P, Xing L, Mei L, Zhao J, Zhang T. Leap Motion-based virtual reality training for improving motor functional recovery of upper limbs and neural reorganization in subacute stroke patients. *Neural Regeneration Research*, 12(11), 2017, pp 1823-31.

Localización de fuentes cerebrales para la caracterización de la demencia debida a enfermedad de Alzheimer

V. Rodríguez-González¹, J. Poza¹, C. Gómez¹, P. Núñez¹, S. J. Ruiz-Gómez¹, A. Maturana¹, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, victor.rodriguez@gib.tel.uva.es

Resumen

En este estudio se han caracterizado los cambios que la demencia y el deterioro cognitivo leve (DCL) debidos a enfermedad de Alzheimer (EA) producen en las fuentes cerebrales. Para ello, se aplicó el método de localización de fuentes conocido como standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography (sLORETA) y se calculó la potencia relativa por bandas a nivel de fuentes cerebrales y a nivel de sensor. Los resultados mostraron que las principales diferencias entre sujetos de control y pacientes con DCL por EA aparecen en la banda zeta. Asimismo, se ha demostrado que los valores de potencia relativa se ven poco afectados por los efectos de conducción de volumen, especialmente en las zonas frontal y occipital. Por tanto, podemos concluir que las alteraciones que provoca la demencia debida a EA comienzan afectando a los ritmos zeta, y que los valores de potencia relativa a nivel de sensor son capaces de cuantificar de manera razonable la activación de los osciladores neuronales a diferente frecuencia.

1. Introducción

La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que provoca alteraciones cognitivas, conductuales y funcionales de manera gradual [1]. Por otro lado, el deterioro cognitivo leve (DCL) por EA presenta síntomas alejados del envejecimiento normal, sin llegar a cumplir los requisitos para ser considerado demencia, por lo que se le considera un estado prodrómico de la EA [1]. La demencia debida a EA constituye el tipo de demencia más común del mundo occidental, habiendo adquirido un gran impacto social, económico y clínico en nuestra sociedad. Se estima que en 2015 afectaba a 47 millones de personas y que se llegará a los 132 millones en 2050 [2]. En España la demencia debida a EA afecta a 900.000 personas, lo cual supone un impacto económico estimado de unos 22.000 millones de euros al año [3].

Las alteraciones asociadas a la demencia debida a EA provocan cambios en la actividad eléctrica cerebral. Por ello, el análisis de la actividad electroencefalográfica (EEG) puede ayudarnos a comprender mejor cómo esta patología afecta al cerebro de los pacientes. Sin embargo, las señales EEG se ven afectadas por los efectos de conducción de volumen debidos a la variabilidad de la permeabilidad eléctrica de los tejidos de la cabeza (materia gris, cráneo, cuero cabelludo, etc.) [4]. Proyectando las señales a nivel de fuente, se eliminan los efectos de esa distorsión [4].

Existen diversos métodos de localización de fuentes, que se agrupan en dos familias: *Equivalent Current Dipole*, donde las fuentes son un número limitado de generadores discretos; y *Linear Distributed (LD)*, donde los

generadores son continuos, ocupando todo el volumen disponible [4]. En este estudio se seleccionó: *standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography (sLORETA)*, que pertenece a la familia de los métodos LD. Se ha escogido este procedimiento por sus adecuados resultados, su sencillez y por ser uno de los métodos más empleados en estudios EEG [5].

Una manera sencilla de cuantificar las alteraciones que la demencia debida a EA provoca sobre las señales EEG, consiste en calcular la potencia relativa (RP, *relative power*) asociada a las oscilaciones neuronales que conforman la actividad cerebral. Esta medida ha sido ampliamente estudiada, tanto a nivel de sensor como a nivel de fuente, para caracterizar las alteraciones asociadas a la demencia por EA [6]. Para analizar la robustez de la RP frente a los efectos de conducción de volumen, se han comparado los resultados obtenidos a nivel de fuente y a nivel de sensor obteniéndose así una cuantificación objetiva del impacto de los efectos de conducción de volumen sobre esta medida. Solo se ha encontrado un artículo que haya hecho este tipo de análisis, pero se centró en estudiar medidas de acoplamiento entre electrodos y parámetros de red [7]. De esta manera, este es el primer estudio en analizar el impacto de los efectos de conducción de volumen sobre medidas de activación de sensores individuales.

2. Materiales y métodos

2.1. Sujetos

Inicialmente, se incluyeron en el estudio 76 sujetos, de los cuales 16 fueron descartados por un nivel de ruido y artefactos excesivos en el EEG. El resto de participantes se dividen en: 18 sujetos de control, 10 pacientes con DCL por EA y 32 pacientes con demencia debida a EA. En la Tabla 1 se pueden ver las características sociodemográficas de la base de datos. No se obtuvieron diferencias significativas entre grupos al comparar edad (p -valor > 0.05 , test de Kruskal-Wallis) y sexo (p -valor > 0.05 , test Chi-cuadrado). Los enfermos fueron diagnosticados según los criterios del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association*. Todos los participantes y sus cuidadores fueron informados sobre la investigación y el protocolo del estudio y dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético de la Universidad de Oporto (Portugal) aprobó el estudio de acuerdo con el Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

2.2. Registros electroencefalográficos

El registro de las señales EEG se llevó a cabo con un sistema de 19 canales (Nihon Kohden Neurofax JE-

	EA	DCL	Control
Participantes (H:M)	32 (27:5)	10 (8:2)	18 (9:9)
Edad (años)	80 [75, 86.5]	81.5 [78, 87]	76 [73, 82]
Educación (A:B)	27:5	8:2	9:9
MMSE	14 [7, 19.5]	24 [23, 25]	29 [28, 30]

Tabla 1. Datos socio-demográficos de la base de datos. Mediana \pm rango intercuartil. EA: pacientes de Alzheimer; DCL: pacientes con deterioro cognitivo leve; C: controles; H: hombre; M: mujer; A: educación primaria o inferior; B: educación secundaria o superior; MMSE: Mini-Mental State Examination.

921A), posicionados estos de acuerdo al sistema internacional 10-20: 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. Se empleó una frecuencia de muestreo de 500 Hz para registrar 5 min. de actividad EEG basal, mientras los sujetos se encontraban relajados, con los ojos cerrados, despiertos e inmóviles. Para prevenir la somnolencia, se monitorizaron los registros en tiempo real. Ninguno de los sujetos del estudio tomaba medicamentos que pudieran influir en las señales EEG en el momento de registro.

A continuación, las señales EEG se preprocesaron de acuerdo a los siguientes pasos: (i) filtro de ranura a 50 Hz y filtro paso banda con ventana de Hamming entre 0.4 y 98 Hz; (ii) análisis de componentes independientes para eliminar artefactos; (iii) segmentación en épocas de 5 segundos; (iv) rechazo visual de artefactos; (v) selección y promediado en frecuencia de las primeras 6 épocas consecutivas sin artefactos.

2.3. Standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography (sLORETA)

sLORETA es un método de localización de fuentes basado en un modelo de fuentes linealmente distribuidas [8]. Restringe las soluciones basándose en el hecho de que la actividad de generadores neuronales cercanos está correlada; es decir, busca la solución que maximiza la sincronización en potencia de los generadores neuronales vecinos [8]. Además, sLORETA aplica ciertas restricciones fisiológicas sobre las fuentes calculadas, para reducir los errores que se producen [8]. sLORETA se enfrenta a un problema indeterminado para llevar a cabo la reconstrucción de fuentes. La función de coste que minimiza para restringir las soluciones es [8]:

$$\min_{\mathbf{S}} \|\mathbf{X} - \mathbf{L}\mathbf{S}\|^2 + \lambda \|\mathbf{S}\|^2, \text{ con } \mathbf{X} = \mathbf{L}\mathbf{S}, \quad (1)$$

donde $\lambda \geq 0$ es un parámetro de regularización, \mathbf{S} es la distribución de las fuentes cerebrales, \mathbf{X} es la distribución eléctrica en los electrodos y \mathbf{L} una matriz de $n_e \times 3m$, con n_e el número de electrodos y m el número de fuentes que estamos considerando.

sLORETA usa una regularización de Tikhonov-Phillips de orden cero, la cual nos da una solución al problema indeterminado anterior [4]:

$$\mathbf{s}_i = \mathbf{L}_i^T [\mathbf{L}_i \mathbf{L}_i^T + \lambda_i \mathbf{I}]^{-1} \mathbf{X} = \mathbf{R}_i \mathbf{S}, \quad (2)$$

donde \mathbf{I} es la matriz identidad, \mathbf{s}_i indica las posibles fuentes (fuentes candidatas), \mathbf{S} indica las fuentes actuales y \mathbf{R}_i es la matriz de resolución que se define de la siguiente manera [4]:

$$\mathbf{R}_i = \mathbf{L}_i^T [\mathbf{L}_i \mathbf{L}_i^T + \lambda_i \mathbf{I}]^{-1} \mathbf{L}_i \quad (3)$$

sLORETA trabaja con 6237 fuentes, lo que nos da una resolución espacial de 5 mm³ [4].

Los análisis realizados en este estudio se han llevado a cabo mediante el software gratuito “Loreta-Key” [8] y MATLAB®.

2.4. Potencia relativa (RP)

A partir de las señales EEG registradas a nivel de electrodo y las activaciones a nivel de fuente, se calculó la RP para caracterizar el espectro de potencia. La RP se define como la potencia espectral en una banda concreta, dividida entre la potencia en todo el espectro:

$$RP_{f_1, f_2} = \frac{\sum_{f_1}^{f_2} X[f]}{\sum_f X[f]} \quad (4)$$

donde $X[f]$ es la densidad espectral de potencia, f_1 y f_2 identifican, respectivamente, la frecuencia inicial y final de cada banda y $\sum_f X[f]$ representa el sumatorio en todo el espectro de interés. Las bandas empleadas fueron: δ (2-4 Hz), θ (4-8 Hz), α_1 (8-10.5 Hz), α_2 (10.5-13 Hz), β_1 (13-20 Hz), β_2 (20-30 Hz) y γ (30-40 Hz) [9, 10].

2.5. Análisis estadístico

En primer lugar, se llevó a cabo un análisis exploratorio de la RP calculada a nivel de fuente y de sensor, evaluando la normalidad con un test de Lilliefors y la homocedasticidad con un test de Bartlett. Los resultados indicaban que los datos no eran homocedásticos, por lo que se aplicó una transformación logarítmica sobre los mismos. Tras ello, se evaluó si existían diferencias significativas entre grupos mediante un test ANOVA, aplicándose una corrección de Bonferroni por las 7 bandas empleadas. Finalmente, se analizó la relación entre la RP a nivel de fuente y de sensor mediante la correlación de Spearman, con el fin de ver relaciones tanto lineales y no lineales.

3. Resultados

La Figura 1 muestra la RP por banda y por región de interés (ROI) a nivel de fuente y a nivel de sensor. Se han definido 5 ROIs (frontal, central, parietal, occipital y temporal) en base a estudios previos [6,9,10]. Se observa que conforme aumenta la frecuencia, se produce una reducción progresiva de la RP en los tres grupos del estudio. Asimismo, se puede ver cómo los enfermos con demencia debida a EA presentan valores mayores de RP en comparación con los otros dos grupos en las bandas δ y θ y para todas las ROI, tanto a nivel de fuente como a nivel de sensor. En el resto de bandas esta tendencia se invierte, los enfermos con demencia debida a EA obtienen valores de RP inferiores respecto a los pacientes con DCL por EA y a los sujetos de control en todas las ROI, de nuevo tanto a nivel de fuente como a nivel de sensor. En la Tabla 2 se puede ver las comparaciones en las que estas diferencias resultan estadísticamente significativas.

En el caso de la comparación entre sujetos de control y pacientes con DCL por EA, la Figura 1 muestra que, tanto

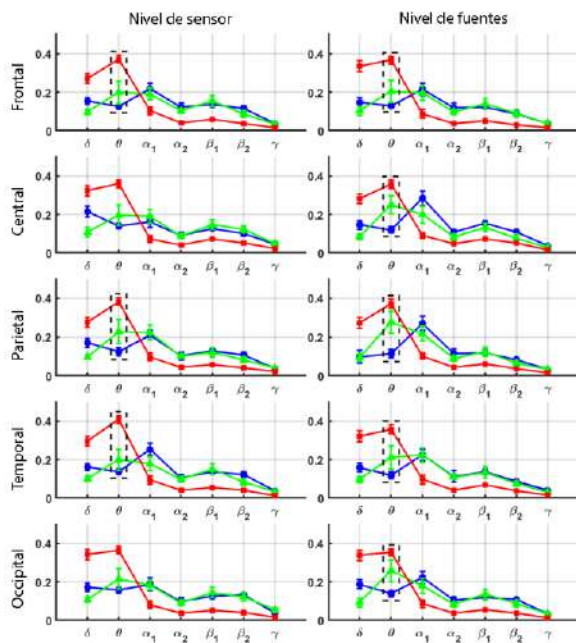


Figura 1. Potencia relativa a nivel de sensor y a nivel de fuente. La línea azul representa a los sujetos de control, la verde a los pacientes con DCL por EA y la roja a los pacientes con demencia debida a EA. Sólo se marcan las diferencias estadísticamente significativas entre sujetos de control y DCL por EA.

a nivel de sensor como a nivel de fuente, existen diferencias significativas entre ambos grupos en la banda θ . En el resto de las bandas, los niveles de RP se mantienen muy cercanos entre ambas. Dichas diferencias aparecen a nivel de sensor en las ROI frontal, parietal y temporal, mientras que a nivel de fuentes todas las ROI presentan diferencias significativas.

En la Figura 2 se muestra el coeficiente de correlación de Spearman, ρ , por banda y por ROI. Este nos informa de un grado de relación elevado entre la potencia relativa a nivel de sensor y a nivel de fuente. Las zonas frontal y occipital presentan las correlaciones más grandes, con valores cercanos a 0.97. Respecto a la frecuencia destaca que las bandas δ y γ presentan una correlación menor que el resto. Todos los p -valores asociados a estos coeficientes eran menores que 0.0001. En la Figura 3, podemos apreciar los diagramas de dispersión para la banda θ en las zonas frontal y occipital. En ellos se puede observar que existe una importante relación lineal positiva entre nivel de fuente y nivel de sensor.

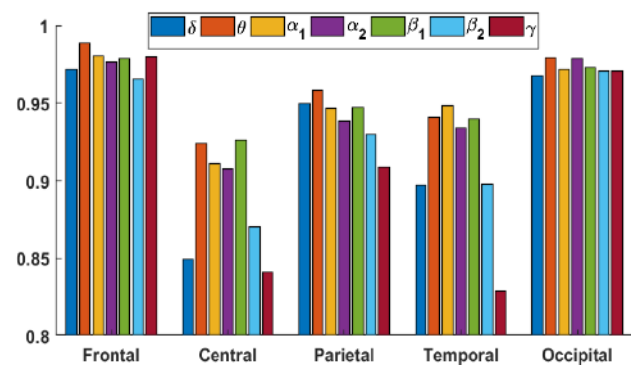


Figura 2. Coeficiente ρ por ROI y banda de frecuencia.

4. Discusión y conclusiones

4.1. Discusión

En la RP se aprecia una lentificación progresiva de los ritmos cerebrales conforme la demencia debida a la EA aparece. Esta lentificación es una de las consecuencias conocidas que la demencia debida a la EA provoca sobre los ritmos cerebrales [11]. Dicha lentificación ha sido comprobada por otros estudios, que observaron una relación directa entre el grado de lentificación y la progresión de la enfermedad medida a través del MMSE [9,11].

Se han obtenido diferencias significativas entre sujetos de control y pacientes con DCL por EA en la banda θ . Además, también se observa que aparecen diferencias entre estos grupos en bandas de alta frecuencia, concretamente, en la banda β_2 a nivel de sensor, y en la α_1 a nivel de fuente. Varios estudios han obtenido resultados similares, tanto a nivel de fuente como a nivel de sensor, llegando a proponer un biomarcador para detectar la demencia debida a EA consistente en el ratio entre la RP en las bandas θ y α [10,12]. Nuestros resultados van en concordancia con estos, pues se aprecia un aumento de la RP a frecuencias bajas, y una disminución a frecuencias altas con la aparición de la demencia debida a EA.

Se ha comprobado que las zonas menos afectadas por los efectos de conducción de volumen son las ROI frontal y occipital. Esto podría deberse a que los electrodos frontopolares están en contacto directo con la piel y no con el cuero cabelludo, mientras que, en la zona occipital, el cráneo afecta menos a las señales EEG. También se ha observado que la correlación entre RP a nivel de fuente y a nivel de sensor presentaba una dependencia con la

		Nivel de sensor							Nivel de fuentes cerebrales						
		δ	θ	α_1	α_2	β_1	β_2	γ	δ	θ	α_1	α_2	β_1	β_2	γ
Frontal	C vs DCL	1	0.023	1	0.399	1	0.522	1	1	0.016	1	0.0334	1	1	1
	DCL vs EA	0.002	0.022	0.011	0.056	0.008	0.066	0.338	0.003	0.058	0.026	0.088	0.012	0.027	0.201
	C vs EA	0.014	<0.001	0.008	<0.001	<0.001	<0.001	0.031	0.019	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	0.048
Central	C vs DCL	0.314	0.148	1	1	1	1	1	1	0.012	1	1	1	1	
	DCL vs EA	0.004	0.016	0.015	0.021	0.015	0.041	0.393	0.005	0.094	0.008	0.088	0.085	0.635	1
	C vs EA	0.497	<0.001	0.023	<0.001	<0.001	<0.001	0.094	0.060	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.352
Parietal	C vs DCL	0.073	0.016	1	0.586	1	0.312	1	1	0.003	1	0.256	1	0.508	1
	DCL vs EA	<0.001	0.188	0.003	0.026	0.065	0.619	1	0.011	0.504	0.003	0.122	0.154	0.966	1
	C vs EA	0.201	<0.001	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	0.207	0.033	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	0.001	0.467
Temp.	C vs DCL	1	0.034	1	1	1	0.405	1	1	0.014	1	0.670	1	0.356	1
	DCL vs EA	0.007	0.018	0.027	0.045	0.004	0.051	0.265	0.006	0.255	0.017	0.036	0.008	0.618	1
	C vs EA	0.032	<0.001	0.005	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.058	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	<0.001	0.078
Occip.	C vs DCL	0.882	0.070	1	1	1	0.741	1	0.464	0.016	1	0.701	1	0.521	1
	DCL vs EA	0.002	0.050	0.010	0.039	0.004	0.022	0.135	0.003	0.216	0.014	0.052	0.009	0.078	0.395
	C vs EA	0.039	<0.001	0.016	<0.001	<0.001	<0.001	0.0161	0.096	<0.001	0.006	<0.001	<0.001	<0.001	0.020

Tabla 2. P-valores corregidos por Bonferroni tras aplicar los test ANOVA “post-hoc” a nivel de sensor y a nivel de fuente. Los valores marcados en negrita indican que en esa comparación se han encontrado diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

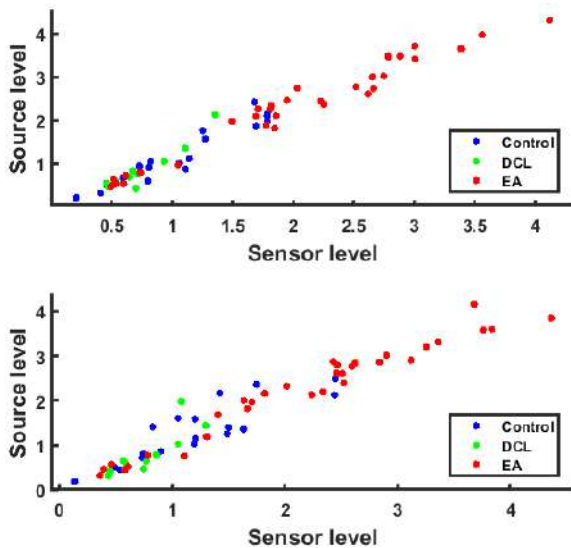


Figura 3. Diagramas de dispersión para la banda θ y las ROI frontal (arriba) y occipital (abajo).

frecuencia, deduciéndose que las frecuencias más altas se ven más afectadas por los efectos de conducción de volumen. Esto podría explicarse de acuerdo a la constante de propagación electromagnética en medios con pérdidas, donde las ondas de mayor frecuencia se ven más afectadas por las pérdidas del medio [5]. La banda δ presenta una correlación menor, posiblemente debido a que es la banda más afectada por el ruido de baja frecuencia.

La RP ha demostrado ser muy robusta frente a los efectos de conducción de volumen. Solo se conoce otro estudio que realice comparaciones entre medidas a nivel de sensor y a nivel de fuentes que, de manera similar al presente análisis, obtuvo una alta correlación entre medidas de acoplamiento global; si bien, esta correlación disminuía al calcular diversos parámetros de red, especialmente aquellos medidos sobre el *Minimum Spanning Tree* [7].

4.2. Limitaciones y líneas futuras

La primera limitación del estudio es su reducido tamaño muestral, especialmente en el grupo de pacientes con DCL por EA. Por ello, se está trabajando en aumentar el tamaño de la base de datos. En segundo lugar, sería interesante evaluar otras medidas para verificar cómo se ven afectadas por los efectos de conducción de volumen. Finalmente, se podría completar el estudio empleando diversas técnicas de localización de fuentes para ver similitudes y diferencias entre ellas.

4.3. Conclusiones

Nuestros resultados indican que, tras localizar las fuentes cerebrales activas durante el estado de reposo, éstas se ven alteradas con la aparición del DCL por EA, fundamentalmente en la banda θ , para después extenderse por todo el espectro cuando el DCL por EA evoluciona a demencia. Las zonas frontal y occipital son las menos afectadas por los efectos de conducción de volumen, probablemente debido a características fisiológicas. Además, a frecuencias bajas esta distorsión es menor, lo cual implica una dependencia respecto de la frecuencia de análisis.

Hasta donde tenemos conocimiento, este es el primer estudio en analizar cómo afectan los efectos de conducción de volumen sobre una medida de activación en sensores individuales.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por Comisión Europea y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) bajo el proyecto ‘Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer’ (‘Interreg V-A España-Portugal, POCTEP 2014-2020’), y por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y el FEDER bajo el proyecto DPI2017-84280-R. S. J. Ruiz-Gómez y P. Núñez disfrutaron de una beca predoctoral cofinanciada por la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo.

Referencias

- [1] J. L. Cummings *et al.*, La neuropsiquiatría de la enfermedad de Alzheimer y demencias relacionadas. *Atlas Medical Publishing*, 2004 (ISBN: 1-84184-219-2).
- [2] M. Prince *et al.*, World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia - An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. *Alzheimer's Disease International*, 2015.
- [3] Economist Intelligence Unit. Assessing the Socioeconomic Impact of Alzheimer's Disease in western Europe and Canada, 2017.
- [4] S. Sanei and J. Chambers, EEG Signal Processing. *Wiley*, 2007 (ISBN: 978-0-470-02581-9).
- [5] M. A. Jatoi *et al.*, A survey of methods used for source localization using EEG signals. *Biomed. Signal Process. Control*, vol 11, no 1, 2014, pp. 42–52.
- [6] C. Babiloni *et al.*, Cortical sources of resting state EEG rhythms are related to brain hypometabolism in subjects with Alzheimer's disease: an EEG-PET study. *Neurobiol. Aging*, vol. 48, no. 13, 2016, pp. 122–134.
- [7] M. Lai *et al.*, “A Comparison Between Scalp- And Source-Reconstructed EEG Networks,” *bioRxiv*, 2017.
- [8] R. D. Pascual-Marqui, Standardized low-resolution brain electromagnetic tomography (sLORETA): technical details. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, vol. 24, no. 4, 2002, pp. 5–12.
- [9] C. Babiloni *et al.*, Cortical Sources of Resting State EEG Rhythms are Sensitive to the Progression of Early Stage Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.*, vol. 34, no. 4, 2013, pp. 1015–1035.
- [10] C. Babiloni *et al.*, Cortical sources of resting state electroencephalographic alpha rhythms deteriorate across time in subjects with amnesic mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging*, vol. 35, no. 1, 2014, pp. 130–142.
- [11] J. Dauwels *et al.*, Slowing and Loss of Complexity in Alzheimer's EEG: Two Sides of the Same Coin?. *Int. J. Alzheimers. Dis.*, vol. 2011, no. 1, 2011, pp. 1–10.
- [12] G. Fahimi *et al.*, Index of theta/alpha ratio of the quantitative electroencephalogram in Alzheimer's disease: A case-control study. *Acta Med. Iran.*, vol. 55, no. 8, 2017, pp. 502–506.

Interfaz tiflotécnica para explorar espacios interiores desde un único punto de observación

A. Cobo Sánchez de Rojas^{1,2}, N. Guerrón Paredes^{1,3}, F. del Pozo Guerrero^{1,2}, J.J. Serrano Olmedo^{1,2}

¹ Centro de Tecnología Biomédica (CTB), Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Madrid, España, {antonio.cobo,nancy.guerron,francisco.delpozo,josejavier.serrano}@ctb.upm.es

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

³ Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE

Resumen

La tiflotecnología es el conjunto de herramientas que proporcionan soluciones a los problemas específicos de los ciegos. Uno de estos problemas es la incapacidad de observar, comprender y aprender la disposición de los obstáculos de una sala desde un único punto de observación. En el presente artículo se presenta una interfaz de realidad aumentada, integrada en un video juego de realidad virtual que permite a los ciegos dirigir su atención a lugares distantes. Se ha observado el comportamiento de un grupo de ciegos al usar esta interfaz de exploración distante y se ha comparado con el método de exploración de proximidad. Se han estudiado las diferencias que resultan de usar uno u otro mecanismo de exploración sobre el esfuerzo durante la exploración y la calidad y utilidad de los mapas cognitivos resultantes. Los resultados muestran que la interfaz de exploración distante propuesta reduce el esfuerzo al que se ven sometidos los ciegos durante la exploración sin introducir ningún efecto negativo ni en la calidad ni en la utilidad de sus mapas cognitivos.

1. Introducción

1.1. Antecedentes

El esfuerzo que realizan los ciegos para tomar sus decisiones cotidianas es desproporcionadamente alto en comparación con el que realizan las personas que ven; esto es así porque se estima que entorno al ochenta por ciento de la información que se usa para desenvolverse en las tareas cotidianas proviene del sentido de la vista [1]. Por lo tanto, la ceguera tiene un efecto limitante que es real [1] pero también tiene otro efecto, conocido como sobredimensionamiento, que consiste en que la persona se convence a sí misma de que puede realizar muchas menos tareas de las que realmente están a su alcance [2]. Cualquiera de estas dos vías, o las dos simultáneamente, tiene un impacto negativo sobre la autoestima de las personas, pudiendo llegar incluso a desembocar en una depresión [2].

Las demandas del entorno, por ejemplo, los desplazamientos entre el domicilio y el trabajo o incluso en el propio lugar de trabajo, pueden abocar a una persona a abandonar su actividad profesional [3] arrebándole una fuente de realización personal, de actividades y de relaciones sociales [2]. La desproporción entre el desempleo de la población activa general y el de la población ciega es abrumadora. Mientras que en el primer caso y durante una etapa económica desfavorable el desempleo se puede situar en torno al veinte por ciento, en el caso de los ciegos la cifra habitual asciende hasta el entorno del setenta por ciento [3].

Al carecer del sentido de la vista, los ciegos no pueden obtener información de los obstáculos que se encuentran a

cierta distancia y por lo tanto no pueden distinguir los espacios a la vista de los espacios de navegación [4]. Los primeros son aquellos en los que, como en una habitación, los potenciales puntos de destino son visibles desde el punto de origen y en los que, por lo tanto, no es necesario desplazarse para aprender su disposición y las rutas para alcanzarlos; mientras que en los segundos, como por ejemplo el conjunto de calles que forman un barrio de una ciudad, sí es necesario desplazarse por ellas para formarse un mapa mental del mismo [5]. Estos mapas mentales, es decir la representación mental de una determinada región del espacio, se conocen como mapas cognitivos [6].

A la vista de esta situación nació el proyecto e-Glance [7,8] con el objetivo de proporcionar a los ciegos la autonomía e independencia suficientes como para evitar su expulsión del mercado laboral. La idea es cambiar el paradigma con el que los ciegos aprenden la disposición de los obstáculos en una sala sustituyendo el paradigma de exploración de proximidad (en el que se ven obligados a deambular por la habitación y a tropezar con los diferentes obstáculos para identificarlos y situarlos) por un paradigma de exploración distante (en el que, al igual que las personas que ven, serían capaces de observar y aprender la disposición de una sala desde un único punto de observación).

1.2. Hipótesis

Se propone utilizar la tecnología de realidad virtual para construir modelos tridimensionales de las estancias en las que los ciegos se van a desenvolver y proporcionarles dos mecanismos para que interactúen con el sistema. En primer lugar una interfaz cognitiva, que es la que atañe al presente artículo, mediante la que sean capaces de dirigir su atención a una región distante; y, en segundo lugar, una interfaz sensitiva mediante la que el sistema proporcione información de los obstáculos presentes en dicha región.

La interfaz cognitiva es un mecanismo de exploración modelado como una entidad software conocida como el foco de atención. Éste se comporta efectivamente de forma análoga a un foco: el ciego puede moverlo para alumbrar a izquierda, a derecha, más cerca, o más lejos de sí mismo y el sistema le proporcionará información de aquella región a la que el foco esté alumbrando.

Para comprobar si este mecanismo es factible y útil para los ciegos se ha formulado la siguiente hipótesis:

Es posible crear un modelo del acto de ojear una escena y replicarlo en situaciones en las que el observador carece del sentido de la vista. Por lo tanto es posible que los ciegos usen una implementación de dicho modelo para aprender la disposición de una estancia desde un único

punto de observación.

Esta hipótesis se apoya en que incluso los ciegos congénitos son capaces de entender y manipular conceptos espaciales [9-12] pero es que, de hecho, la mayoría de los ciegos sí tienen experiencia visual [13]. Además la evidencia científica previa también demuestra que, tanto para ciegos como para personas que ven, es posible utilizar un video juego de realidad virtual para aprender la disposición de los obstáculos de una sala y, después, utilizar este conocimiento espacial para desenvolverse por el espacio físico equivalente [4,14-17]. El inconveniente de los sistemas de realidad virtual que se han venido utilizando hasta la fecha es que éstos imitan el mecanismo de exploración de proximidad y por lo tanto no aportan ningún valor añadido si se quieren utilizar *in situ*.

2. Metodología

Se ha observado cómo se desenvuelve un grupo de ciegos al explorar una sala con un mecanismo de exploración de proximidad y se ha comparado con cómo lo hacen con un mecanismo de exploración distante. Con los datos recogidos se ha intentado responder a tres preguntas:

- ¿Es menor el esfuerzo que realizan los ciegos al utilizar la exploración distante?
- ¿Se desenvuelven peor los ciegos en la sala física equivalente tras usar la exploración distante?
- ¿Empeora la calidad de sus mapas cognitivos por usar la exploración distante?

2.1. Participantes

Se han reclutado diecinueve voluntarios de entre afiliados y empleados de la ONCE y la Fundación ONCE. Todos ellos mayores de edad, ciegos totales y sin discapacidades adicionales.

2.2. Equipamiento

Se les ha proporcionado un video juego de realidad virtual en el que estaban representadas tres salas (una oficina, un bar, y un dormitorio) todas ellas con cuatro paredes, dos ventanas, una columna, dos puertas, y seis objetos diferentes. El video juego se ha cargado en un smartphone con pantalla táctil y giroscopio, que son los dispositivos que se necesitan para enviarle órdenes al mecanismo de exploración.

Dentro de este video juego se les ha proporcionado el mecanismo de exploración distante (el foco de atención) de hecho, se les han proporcionado dos implementaciones diferentes, a saber, el foco esférico (sFoA) y el foco plano (fFoA) cada uno con la forma que se muestra en la Figura 1.

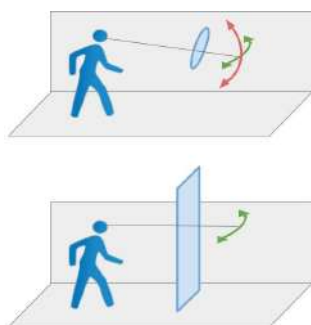


Figura 1. Foco esférico – sFoA (arriba) y foco plano – fFoA (abajo)

Ambos son una proyección a lo largo de la línea de visión de la persona en el mundo físico y de su avatar en el mundo virtual, que choca con los obstáculos que encuentra a lo largo de dicha línea de visión (Figura 2).

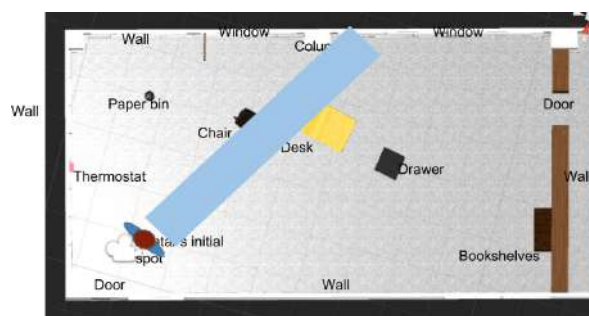


Figura 2. Proyección del foco de atención a lo largo de la línea de visión

El foco comienza por informar de la presencia del obstáculo más cercano en la propia línea de visión y el participante puede deslizar un dedo hacia arriba por la pantalla táctil del smartphone para indicarle que salte hasta el siguiente obstáculo. Por contra, si lo desliza hacia abajo le indica que salte hasta el anterior obstáculo. Los participantes pueden variar la dirección de la línea de visión rotando sobre sí mismos con la pantalla del smartphone apuntando hacia sí mismos. Aquí es donde se diferencian los dos focos entre sí. El foco esférico (sFoA) tiene un menor tamaño y más grados de libertad; lo que le permite variar la dirección de línea de visión hacia la izquierda, hacia la derecha, hacia arriba y hacia abajo. Sin embargo, con ello es más difícil atinar y alumbrar a un obstáculo de pequeño tamaño. El foco plano (fFoA) por contra, sólo permite variar la dirección de la línea de visión hacia la izquierda y hacia la derecha. Al ser de mayor tamaño, es capaz de detectar cualquier obstáculo a lo largo de la línea de visión independientemente de su tamaño y de la altura a la que esté situado.

Para comparar la exploración distante con la exploración de proximidad se ha implementado, también dentro del mundo virtual, un mecanismo de exploración de proximidad (noFoA) consistente en una zona de seguridad que rodea al avatar y que va informando de los obstáculos con los que tropieza conforme el avatar deambula por la sala (Figura 3).

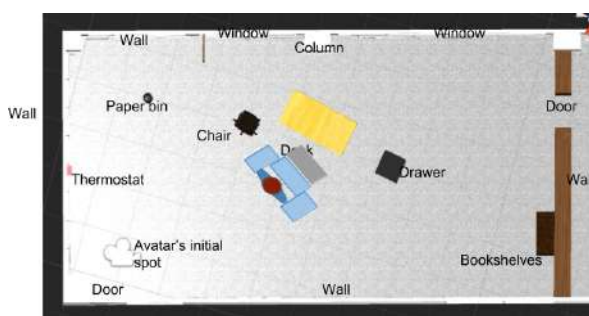


Figura 3. Mecanismo de exploración de proximidad (noFoA)

2.3. Procedimiento

Se ha conducido un estudio transversal intra-sujetos en el que cada participante ha realizado tres experiencias, una de ellas en cada sala (oficina, bar, y dormitorio) cada una de ellas con un mecanismo de exploración diferente (sFoA, fFoA, noFoA). Para evitar los sesgos que pudiera introducir el hecho de visitar las salas siempre en el mismo orden y el hecho de usar los mecanismos de atención siempre en el mismo orden, se han aleatorizado tanto la combinación de

escenas-mecanismos de exploración, como el orden en el que se exploran dichas combinaciones.

Para cada una de las experiencias, los participantes han pasado por tres fases. Las dos primeras (bienvenida y entrenamiento) han servido para explicarles cómo funcionaba el mecanismo de exploración que iban a utilizar a continuación y para que se familiarizaran con ello. Para familiarizarse han hecho uso de una aplicación específica para entrenar sin límite de tiempo. En segundo lugar, han procedido a explorar una de las tres salas (oficina, bar, o dormitorio) sin límite de tiempo, hasta que han considerado que se la habían aprendido. En tercer lugar, se ha extraído de su mente el mapa cognitivo mediante un proceso de externalización en el que se les ha administrado un cuestionario en el que se les preguntaba por las estructuras que habían detectado (paredes, puertas, ventanas, columnas) y se les han ofrecido tres maquetas de entre las que han tenido que identificar la que mejor representaba la forma de la sala virtual que habían explorado; y se les han proporcionado unas miniaturas de entre las que han tenido que identificar cuáles representaban objetos presentes durante la exploración, y colocarlas en su lugar correspondiente, y también han tenido que identificar cuáles representaban objetos que no estaban presentes durante la exploración.

Por último se les ha pedido que realicen tres tareas en el espacio físico equivalente a la sala virtual que habían explorado. Estas tareas han consistido en tres desplazamientos que requieren el uso de un tipo de habilidad espacial cada uno.

2.4. Análisis

El esfuerzo que realizan los ciegos durante la exploración se ha operacionalizado con tres variables:

- La efectividad, medida como el número de obstáculos detectados durante la exploración.
- La eficiencia, medida como el tiempo de descubrimiento, es decir, el tiempo que transcurre desde el inicio de la exploración hasta que no se detectan obstáculos nuevos.
- La duración total, medida como el tiempo que transcurre desde el inicio hasta la finalización de la exploración.

Se ha estudiado la dependencia de cada una de estas tres variables con el tipo de mecanismo de exploración (sFoA, fFoA, noFoA). Al tratarse de variables del tipo ratio-level se han utilizado sendas pruebas de contraste de hipótesis del tipo repeated-measures ANOVA, siempre que se han cumplido las correspondientes asunciones; cuando no ha sido así se ha utilizado un test de Friedman.

La capacidad de los ciegos para desenvolverse adecuadamente en el espacio físico equivalente al espacio virtual se ha operacionalizado como el estado de éxito o fracaso al completar las tareas que los ciegos realizaron en la sala física. Se ha estudiado la dependencia de dicha variable con el tipo de mecanismo de exploración. Al tratarse de una variable dicótoma se ha utilizado una prueba de Mantel-Haenszel de asociación general.

La calidad de los mapas cognitivos se ha operacionalizado con dos variables:

- La calidad del contenido de los mapas cognitivos, medida como el valor numérico de un índice, conocido

como SUQI, especialmente diseñado para este menester.

- La fluidez de recordación, medida como el tiempo que emplearon los participantes en identificar la maqueta e identificar y colocar las miniaturas.

Se ha estudiado la dependencia de estas variables con el mecanismo de exploración. De nuevo, al tratarse de variables del tipo ratio-level se han utilizado sendas pruebas de contraste de hipótesis del tipo repeated-measures ANOVA, siempre que se han cumplido las correspondientes asunciones; cuando no ha sido así se ha utilizado un test de Friedman.

3. Resultados

	fFoA	noFoA	p-value
Efectividad	14.06 obstáculos	11.33 obstáculos	0.0006
Eficiencia	234.36 s	496.50 s	0.0027
Duración	436.15 s	729.80 s	0.024

Tabla 1. Diferencias significativas entre el esfuerzo con el foco plano (fFoA) y la exploración de proximidad (noFoA).

	fFoA	sFoA	noFoA	p-value
egocéntricas	53%	70%	47%	0.24
alocéntricas	47%	33%	40%	0.76
orientación	76%	71%	76%	0.89

Tabla 2. Sin diferencias significativas entre las tasas de éxito en tareas físicas.

	fFoA	sFoA	noFoA	p-value
contenido	3.32 (34%)	3.35 (35%)	3.70 (38%)	0.21
fluidez	4 min 9 s	3 min 34 s	3 min 56 s	0.33

Tabla 3. Sin diferencias significativas entre las medidas de calidad de los mapas cognitivos.

4. Discusión

Durante la exploración distante con el foco plano (fFoA) se detecta una cantidad mayor de obstáculos, en concreto un incremento del 24%, y se necesita una cantidad menor de tiempo tanto para detectarlos como para considerar que se ha comprendido su distribución espacial, con reducciones del 53% y 38%, respectivamente. Sin embargo, el foco esférico (sFoA) no fue capaz de replicar este comportamiento.

Al comparar el éxito en las tareas físicas en función del mecanismo de exploración utilizado durante la exploración no se observa ningún efecto negativo en la utilidad de los mapas cognitivos generados tras haber empleado un mecanismo de exploración distante.

Ni la calidad del contenido de los mapas, ni la fluidez de recordación muestran diferencias significativas entre los tres mecanismos de exploración. Por lo tanto, no se observa ningún efecto negativo en la calidad de los mapas cognitivos generados tras haber empleado un mecanismo de exploración distante.

No se conocen otros trabajos en los que se haya estudiado la exploración distante. En [18] se describen tiempos medios de exploración de 30 minutos, que contrastan con los 7 minutos del foco plano (fFoA). Si bien la exploración de proximidad en el presente estudio resulta en tiempos de exploración de 12 minutos, la diferencia puede deberse a que en [18] los participantes tenían que identificar los obstáculos palpándolos con interfaces hápticas. Las identificaciones de obstáculos tras usar el foco plano son similares o mejores que las descritas en [19]. En [16] se describen tasas de éxito en tareas físicas por encima del 70% mientras que en el presente estudio se sitúan en torno al 53%. Esta diferencia se interpreta como una manifestación del efecto de la actualización de los mapas cognitivos durante la exploración física de la sala. Otros estudios previos no hacían uso de espacios de tamaño y complejidad comparable.

Al tratarse de un estudio intra-sujetos, el presente estudio elimina los efectos perniciosos de las posibles diferencias individuales entre participantes. Sin embargo, puesto que ninguna de las variables está relacionada con el tiempo, son vulnerables efectos de acarreo. Para evitarlo se aplicó un cuadrado latino, sin embargo, el tamaño de la muestra puede no ser suficiente para eliminar por completo su influencia. Un estudio con una muestra mayor y un estudio inter-sujetos sería un medio apropiado para corroborar los resultados aquí obtenidos.

5. Conclusiones

La similitud de la calidad de los mapas cognitivos observada entre las personas que utilizan el foco de atención como soporte a la exploración distante y las mismas personas cuando utilizan el enfoque habitual de exploración de proximidad implica que el foco de atención es un modelo válido del acto de echar un vistazo a una escena y que es apropiado para personas ciegas.

Además, se observan niveles superiores de efectividad y eficiencia con el foco plano; lo que significa que el modelo propuesto reduce la brecha de esfuerzo entre los ciegos y las personas videntes.

Por lo tanto, se puede considerar que la hipótesis inicial ha quedado confirmada.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento especial a la ONCE y la Fundación ONCE por su colaboración como consultores externos durante el proceso de desarrollo y su participación activa durante la etapa de reclutamiento de los voluntarios.

Nuestro agradecimiento especial a los voluntarios ciegos por el tiempo que han dedicado, el esfuerzo que han realizado y la simpatía y amabilidad que han derrochado.

Este trabajo ha sido financiado por la Cátedra Indra-Fundación Addecco [proyecto e-Glance] y co-financiado con fondos FEDER. Las entidades financiadoras no han participado en la recolección, análisis, o interpretación de los datos; ni en la escritura de este informe; o en la decisión de enviarlo para su publicación.

Referencias

- [1] Página web de la Organización Nacional de Ciegos Españoles (ONCE). <https://www.once.es/dejanos-ayudarte/la-discapacidad-visual> (Consultada: Abril 2018).
- [2] Pallero R, González L. Psicología y ceguera : manual para la intervención psicológica en el ajuste a la deficiencia visual. ONCE, 2003, pp 311-62.
- [3] La Grow S, Daye P. Barriers to Employment Identified by Blind and Vision-Impaired Persons in New Zealand. *Social Policy Journal of New Zealand*, vol 26, 2005, pp 173-85 (ISSN: 1177-9837)
- [4] Picinali L, Afonso A, Denis M, Katz B. Exploration of architectural spaces by blind people using auditory virtual reality for the construction of spatial knowledge. *International Journal of Human-Computer Studies*, vol 72, iss 4, 2014, pp 393-407 (ISSN: 1071-5819)
- [5] Wolbers T, Wiener JM. Challenges for identifying the neural mechanisms that support spatial navigation: the impact of spatial scale. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol 8, 2014 (ISSN: 1662-5161).
- [6] Tolman EC. Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, vol 55, iss 4, 1948, pp 189-208 (ISSN: 1939-1471 0033-295X).
- [7] Página web del proyecto e-Glance en el Centro de Tecnología Biomédica. <http://eglance.ctb.upm.es/es/eglance/> (Consultada: Julio 2018)
- [8] Página web del proyecto e-Glance en INDRA. <https://www.indracompany.com/es/noticia/glance-app-realidad-aumentada-mejorara-orientacion-espacial-personas-discapacidad-visual> (Consultada: Julio 2018)
- [9] Bonino D, Ricciardi E, Bernardi G, Sani L, Gentili C, Vecchi T, Pietrini P. Spatial imagery relies on a sensory independent, though sensory sensitive, functional organization within the parietal cortex: A fMRI study of angle discrimination in sighted and congenitally blind individuals. *Neuropsychologia*, vol 68, sup C, 2015, pp 59-70 (ISSN: 0028-3932)
- [10] Loomis JM, Klatzky RL, Giudice NA. Multisensory Imagery. Springer, 2013. pp 131-155 (ISBN: 978-1-4614-5878-4 978-1-4614-5879-1)
- [11] Noordzij M, Neggers S, Ramsey NF, Postma A. Neural correlates of locative prepositions. *Neuropsychologia*, vol 46, iss 5, 2008, pp 1576-80 (ISSN: 0028-3932)
- [12] Struiksma ME, Noordzij ML, Postma A. What is the link between language and spatial images? Behavioral and neural findings in blind and sighted individuals. *Acta Psychologica*, vol 132, iss 2, 2009, pp 145-156 (ISSN: 0001-6918).
- [13] ONCE. DATOS visuales y sociodemográficos de los afiliados a la once. ONCE, 2017.
- [14] Chebat DR, Maidenbaum S, Amedi A. Navigation Using Sensory Substitution in Real and Virtual Mazes. *PLOS ONE*, vol 10, iss 6, 2015, pp e0126307 (ISSN: 1932-6203).
- [15] Connors EC, Chrastil ER, Sánchez J, Merabet LB. Virtual environments for the transfer of navigation skills in the blind: a comparison of directed instruction vs. video game based learning approaches. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol 8, 2014 (ISSN: 1662-5161).
- [16] Lahav O, Mioduser D. Haptic-feedback support for cognitive mapping of unknown spaces by people who are blind. *International Journal of Human-Computer Studies*, vol 66, iss 1, 2008, pp 23-35 (ISSN: 1071-5819).
- [17] Merabet LB, Connors EC, Halko MA, Sánchez J. Teaching the Blind to Find Their Way by Playing Video Games. *PLOS ONE*, vol 7, iss 9, 2012, pp e44958 (ISSN: 1932-6203).
- [18] Lahav O, Mioduser D. Exploration of Unknown Spaces by People Who are Blind Using a Multi-Sensory Virtual Environment. *Journal of Special Education Technology*, vol 19, iss 3, 2004, pp 15-23 (ISSN: 0162-6434).
- [19] Lahav O, Mioduser D. Construction of cognitive maps of unknown spaces using a multi-sensory virtual environment for people who are blind. *Computers in Human Behavior*, vol 24, iss 3, 2008, pp 1139-1155 (ISSN: 0747-5632).

Design and implementation of a Virtual Reality platform for Upper Limb rehabilitation

D. Sepúlveda Muñoz¹, A. de los Reyes Guzmán², A. Gil Agudo², A. Gutiérrez Martín¹

¹ Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, delia.sepulvedam@alumnos.upm.es, a.gutierrez@upm.es

² Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Paraplégicos, Toledo, España, {adlos.amgila}@sescam.jccm.es

Resumen

Robot-aided and virtual reality environments are used usually in rehabilitation tasks due to their high effectiveness. Furthermore, these technologies can be used as rehabilitation exercises complementary to the traditional ones. In fact, combining these two types of rehabilitation allows patients to receive more quantity of therapy. The use of serious games enables patients to feel more motivated and increase the engagement to the treatment and the level of attention during the motor rehabilitation process. Therefore, these therapies can improve motor learning and functional mobility in patients with motor impairments.

In the rehabilitation process proposed by mean of serious games, patients feel a haptic feedback for exercising the arm muscles strengthening. Consequently, the system provides to the patient a total immersion sensation in the serious games. To test the serious games and to check the usability of the platform, a proof of concept was made. The study was carried out for obtaining data which supports the feasibility of the platform developed and to examine if spinal cord injured patients have the ability to manipulate the applications in a successful way.

1. Motivation

Spinal Cord Injury (SCI) is one of the most important neurological diseases that produce deficiencies in the field of physical disability [1]. The arm and hand are designed to perform very skilled movements which allow us to perform daily living activities [2]. The recovery and rehabilitation of the upper limb (UL) after cervical SCI depends on the injury level and severity.

The use of new technologies in the rehabilitation field has been increased in the last years, because patients can increase the therapy. One of them is the Virtual Reality (VR) applied in rehabilitation therapies. There is evidence that VR, in combination with traditional rehabilitation, produces an acceleration in the rehabilitation process and patients enjoy more the task performance [3]. The combination of robotics with VR has many advantages for intervention, such as enabling the grading of activities, obtaining precise performance measures, providing a safe environment, and being enjoyable and motivating.

Integrating gaming features into VR environments has been reported to enhance motivation in adults undergoing physical and occupational therapy [4]. This is called serious game, which is a computer-based game with the goal of education and/or training in any form, as opposed to traditional computer games, which are

primarily intended to entertain. Therefore, by using game mechanics it is possible to create an engaging experience that simultaneously helps rehabilitation.

2. Enabling technologies

The system makes use of a low-cost haptic robot the Novint Falcon [5]. This device has 3 DOF (see Figure 1) and it is used to simulate touch in a virtual world, allowing the user to feel virtual objects or other physical forces. The device consists of three motorized arms attached to an interchangeable end-effector. Due to its low cost and features, the Novint Falcon could be an excellent tool used with a rehabilitation purpose. The device can be used as an end-effector robotic device for UL rehabilitation to assist, resist or support the patient. The main advantage of the end-effector system is that it adapts to patients with different body sizes. It has 10x10x10 cm³ of 3D touch space and can exert up to 9 Newtons of force. The device can simulate the feeling of objects to a sub-millimeter precision and refreshed to 1000 Hz, making the experience very smooth.

For using this device with a rehabilitation purpose, the standard grip, with ball shape, needs to be changed. This spherical end-effector is difficult to use for patients with neuromotor disabilities. After some discussions with occupational therapists, a cylinder grip was designed for a better hand-grasp.

The design for the prototype was made to be built in a 3D printer (see Figure 1). It was designed considering an average of the distance from the palm of the hand till the end of the fingers.



Figure 1. Novint Falcon haptic device and the novel HandGrip designed for Novint Falcon

3. Implementation

Rehabilitation is a special environment for games, therefore, specific design considerations should be made. The design needs to ensure that the game aspect does not compromise the rehabilitation effort.

3.1. Design consideration

In these types of games, the task to develop must be adjustable and personalized for each patient, because they must not create stress. In rehabilitation, exercises are necessarily simple. They need to be easy to repeat, to ensure that the movement is correct and beneficial for the patient [6]. Furthermore, each exercise needs to have very clear goals and limitations. To promote plasticity, exercises need to encourage a constant repetition of movements. Objectives must be achievable performing simple movements. With all these considerations, the patient is involved in a learning process.

For this paper, virtual sessions were designed along therapeutic guidelines for SCI interdisciplinary rehabilitation. The system offers visual, auditory and haptic feedback during the sessions, to increase the engagement, to facilitate the comprehension of exercises and to deliver a clear sense of progress.

3.2. Modular design

The entire platform is made of different modules implemented in Unity 3D [7]. These modules are used in all the games with different variations between them.

Virtual end-effector. This module updates the position of the end-effector every frame in the scene. This is very important for obtaining a good visualization in the game. It is necessary to avoid vibrations of the image or unreal movements.

Collision detection. This is the key of these rehabilitation games. The collision detection between the end-effector and the game objectives must be done in all the games.

Timer. All the games need a timer to restrict the therapy duration. Therefore, patients are focused on the task because they have only a certain time to perform it.

4. Serious games

The rehabilitation platform is formed by three serious games (see Figure 2). The goal of all of them is to reach the number of objectives selected by the therapist.

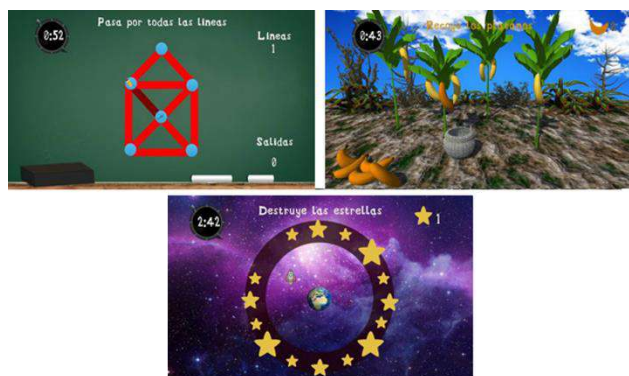


Figure 2. Interface of "Following the path", "Picking bananas" and "Destroying stars" games

4.1. Following the path

The end-effector in the scene is representing a pencil.

When the user moves it, the pencil draws a trajectory in the scene. The visualization of the trajectory helps users in the development of the task. Users must go by the path without going out of the edges. When users go out of the trajectory, a sound is produced to enhance their attention and a force is exerted on the opposite direction. The goal of the game is to pass through all the lines. When the user completes a segment, it changes its color to a darker one (see Figure 2).

This rehabilitation game is based on a path guidance exercise. The therapeutic objective is to improve the accuracy in the UL movement made by the patient and to recover fine motor control. This training modality using robot-mediated therapy is a combination of assistive and active exercise. The force applied in this rehabilitation game is convergent [8]. The assistive force pushes the patient's hand to the correct path.

4.2. Picking bananas

The end-effector in the virtual environment is visualized as a basket and the objectives to achieve are bananas. The goal of the game is to pick up the total number of bananas with the basket. Therefore, users need to move the end-effector in a precise way to capture the bananas. The game finishes when all the bananas have fallen from the trees.

Four banana trees appear in the scene with the total number of objectives selected in the game setting menu. Each banana is going to fall from the trees in a randomly order, preventing users from knowing in advance the position to which they must move the end-effector (see Figure 2).

Depending on the number of objectives and time chosen, the frequency of falling changes to obtain a proportional distribution. When one banana is going to fall, it changes its color and a sound is produced. These visual and auditory feedbacks help users to identify toward which place they need to move the end-effector. When users catch a banana with the basket, it disappears, and another sound is produced to inform about the achievement.

The force feedback increases with the number of bananas captured, but if the number is high this can tire users, then the option to release the basket weight appears. Every five bananas collected, the user can perform the release of weight in a corner of the screen. In this way, the basket will be empty again and the force feedback will be zero till a new banana is captured.

The rehabilitation exercise implemented in this serious game is resistive, that means that the haptic robot makes the movement more difficult by opposing the movement received from the patient. Progressive resistance exercise appears to be a safe and efficacious intervention for many patients with muscle force deficits.

4.3. Destroying stars

The aim of this game is to destroy all the stars that appear in the scene. To achieve it, the user needs to move the end-effector, a rocket on the screen, till the star position.

The game finishes when the total number of stars are destroyed or the time is up.

At the beginning, the objectives selected in the game setting menu appear in the scene and the end-effector appears in centered position on the screen. The stars have different size to force the user to go away from the center. The bigger ones are easier to catch than the smaller ones.

During the game, if a collision is detected between the rocket and one of the available stars, this star will be destroyed and will disappear of the scene. When the user destroys a star, a sound is produced and the score available in the screen increments. This feedback source helps to the patient to follow their own progress during the performance.

After destroying a star, the user must come back to the center of the screen before other destruction. The collision detection will not be available until the user reaches the center of the scene. To make this case clearer, once a star is destroyed the Earth, that is placed in the center acquires a colorful appearance. When the collision of the rocket with the Earth has occurred, the user can go again for another star and the Earth becomes transparent (see Figure 2).

In this case, there is a zone without force in the middle of the game circle, but when the patient is close to the targets, the force applied increases. Its goal is to obtain the strengthening of the UL muscles. In addition, the linearity of the movement can be checked with this game.

5. Proof of concept

To test the three serious games and to check the usability of the platform, a proof of concept was made in the Biomechanics and Technical Aids Department of the Hospital Nacional de Paraplégicos in Toledo (Spain). The study was carried out for obtaining data which supports the feasibility of the platform developed and to examine that SCI patients have the ability to manipulate the applications in a successful way.

5.1. Participants

Eight people have participated in the platform validation, four healthy subjects and four cervical SCI patients, obtaining paired groups. All SCI patients were neurologically assessed by means of ASIA (American Spinal Injury Association) scale (grades A-E), being all the cases incomplete injuries in both motor and sensitive aspects. All patients involved in the study need to have control of their UL including shoulder and wrist movement allowed.

Patient	Age	Sex	Injury	ASIA	Etiology
P1	19	M	C4	C	Trauma
P2	18	M	C4	D	Trauma
P3	45	F	C5	D	Trauma
P4	20	M	C6	C	Trauma

Table 1. Clinical characteristics of the SCI patients' sample analyzed

In Table 1 the clinical characteristics from all SCI patients are shown. In relation to the healthy subjects, the mean age was 33.25 years and the 50% of the sample analyzed was female sex.

5.2. Intervention

The study was performed for two days, with two sessions per day. The three games were performed in all sessions, always in the same order and with the same characteristics to avoid including variability into the study.

The study was carried out only taking data from one of the arms of the participants. In the SCI group, the arm with less mobility was selected. It was the same member in which they were receiving traditional rehabilitation in physiotherapy sessions and the one in which they wanted to improve their skills. In the healthy group, all subjects were right-handed.

5.3. Processing and analysis

In this study, to analyze the trajectory smoothness is one of the key aspects. Movement smoothness is a quality characteristic related to the continuity of a movement, independent of its amplitude and duration [9].

SCI patients' goal-directed reaching movements are saccadic, which become smoother with motor recovery, because muscle properties contribute to movement smoothness. Measurement of smoothness may provide a meaningful, objective quantification of motor performance that could be used to augment clinical evaluations. Consequently, movement smoothness has been used as a measure of motor performance of both groups healthy and SCI.

Smoothness measures have been obtained using the number of peaks method, which relies on the fact that the speed profile of smooth movements has a single peaked, while unsmooth movements have higher number of speed peaks. Therefore, fewer peaks in speed represent fewer periods of acceleration and deceleration, making a smoother movement. This measure counts the number of local maxima (peaks) of the signal in a given speed profile $v(t)$, where $|\cdot|$, represents the cardinality of a set.

$$NP \cong \left| \left\{ v(t), \frac{dv(t)}{dt} = 0 \text{ and } \frac{d^2v(t)}{dt} \right\} \right|$$

6. Results

In this section, the results obtained in the "Following the path" game are described. SCI patients performed the task slower than healthy people, detecting significant statistically differences between both groups in the performance time ($p < 0.05$) (see Table 2) by the application of Kruskal Wallis non-parametric test.

The trajectory analysis in terms of smoothness show difference between healthy and SCI patients. In all cases, SCI patients execute a higher number of corrections within the trajectory (see Figure 3) and, as a consequence, a higher peaks number in the speed profile than healthy subjects.

The boxplots related to the peaks number are shown in Figure 4. The boxplots aren't overlapping for both groups, discriminating between pathological and healthy condition.

	Healthy subjects (n=4)	SCI patients (n=4)
Duration (s)	28.55 (7.91)^a	49.52 (13.33)^a
Mean velocity x (m/s)	0.063 (0.008)	0.058 (0.015)
Mean velocity y (m/s)	0.070 (0.018)	0.058 (0.020)

Table 2. Duration and mean velocity during the execution of "Following the path" game (a, $p < 0.05$)

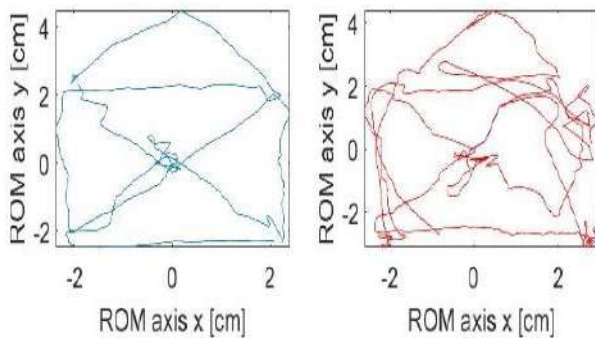


Figure 3. Trajectory performed by a healthy subject (blue color) and a SCI patient (red color) during the "Following the path" game

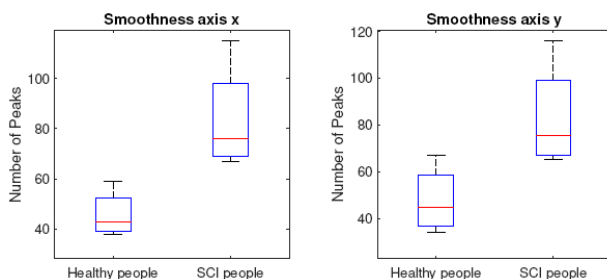


Figure 4. Boxplot related to smoothness characteristic in healthy and SCI patients' groups during the game "Following the path"

7. Discussion

This work takes advantage of low-cost VR systems and robotic haptic devices to enhance involvement and engagement of patients, to provide a congruent multisensory afferent feedback during motor exercises, and to benefit from the flexibility of virtual scenarios for adapting the motor exercises to the needs of the patients. Moreover, with this platform, SCI patients can increase the therapy time that spends in their rehabilitation process, which becomes more enjoyable and motivated.

The results obtained confirm the hypothesis of the smoothness analysis, because a higher peaks number indicate a less smooth trajectory. This effect has been observed in SCI patients that perform longer trajectories with more directional changes than healthy subjects. However, there is no evidence of similar experiences in SCI populations and the results can't be compared.

8. Conclusion

The results show that incorporating technologies into the UL rehabilitation program of cervical SCI patients is feasible, and that the platform allowed collect objective data for checking the SCI patients' progress.

As a conclusion, this platform can be a perfect complement to the traditional rehabilitation methods. The following step is to program a therapy based on the use of these games with Novint Falcon and to examine the UL functionality improvement in the patients.

Acknowledgments

This work was supported by Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo (Spain) and Universidad Politécnica de Madrid (Spain). The authors acknowledge the collaboration of the participants in this study. This research has been funded by grant from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and cofunded from FEDER, National Plan for Scientific and Technological Research and Innovation. Project RehabHand (Plataforma de bajo coste para rehabilitación del miembro superior basado en Realidad Virtual, ref. DPI2016-77167-R).

References

- [1] Huete-García A and Díaz-Velázquez E. Análisis sobre lesión medular en España. *Federación Nacional Aspaym*, 2012, pp 1-20 (ISBN: 9788461575039).
- [2] Connolly SJ, McIntyre A, Mehta S, Foulon BL, and Teasell RW. Upper limb rehabilitation following spinal cord injury. *SCIRE Spinal Cord Injury. Rehabilitation Evidence*, 2013, pp 149-61.
- [3] Dimbwadyo-Terrer I, Trincado-Alonso F, De los Reyes-Guzmán A, López-Monteaudo P, Polonio-López B, and Gil-Agudo A. Activities of daily living assessment in spinal cord injury using the virtual system Toyra®: functional and kinematic correlations. *Virtual Reality*, vol 20, sup 1, 2016, pp 17-26 (ISSN: 14349957).
- [4] Merians AS, Poizner H, Boian R, Burdea G, and Adamovich S. Sensorimotor training in a virtual reality environment. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, vol 20, sup 2, 2006, pp 252-267 (ISSN: 1545-9683).
- [5] Wide variety of games. <http://www.robotshop.com/media/files/PDF/datasheet-nf1-s01.pdf> (Accessed: June 2018).
- [6] Schouten B, Fedtke S, Schijven M, Vosmeer M, and Gekker A. Games for Health: proceedings of the 4th conference on gaming and playful interaction in healthcare. 2014 (ISBN: 9783658071417).
- [7] Unity3D (Unity manual: Creating gameplay). <http://docs.unity3d.com/Manual/CreatingGameplay.html>. (Accessed: June 2018).
- [8] Tropea P, Cesqui B, Monaco V, Aliboni S, Posteraro F, and Micera S. Effects of the alternate combination of error-enhancing and assistive robot mediated treatments on stroke patients. *IEEE Journal of Translational Engineering in Health and Medicine*, vol 1, 2013 (ISSN: 2168-2372).
- [9] Rohrer B, Fasoli S, Krebs HI, Hughes R, Volpe B, Frontera WR, Stein J, and Hogan N. Movements smoothness changes during stroke recovery. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, vol 22, sup 18, 2002, pp 8297-8304 (ISSN: 1529-2401).

Modelado computacional de bobinas para estimulación magnética transcraneal

P. Franco Rosado, J. Reina Tosina, M.A. Callejón Leblic.

Grupo de Ingeniería Biomédica, Departamento de Teoría de Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, pfranco.eng@gmail.com, jreina@us.es, amparocallejon@gmail.com.

Resumen

Este trabajo se presenta en el contexto del modelado computacional de la técnica de estimulación magnética transcraneal, centrándose en uno de los factores primordiales de la simulación, la bobina, y cómo el grado de detalle con el que se representa afecta a las distribuciones de campo eléctrico inducidas, diferenciando entre las componentes tangenciales y normales a la superficie cortical. Empleamos el método de elementos finitos como alternativa computacional sobre un modelo esférico del cráneo para tres bobinas con distinto nivel de detalle. Realizamos una comparación de los valores de pico y de la topología de las distribuciones de campo eléctrico obtenidas así como de las limitaciones computacionales detectadas. Si bien las distribuciones de la componente tangencial son semejantes en las tres variantes, la distribución de la componente normal mejora su definición con el grado de detalle.

1. Introducción

Desde que fue presentada en 1985, la estimulación magnética transcraneal (TMS) ha sido objeto de un creciente número de estudios clínicos y técnicos al representar una vía de estimulación cortical no invasiva y de escasos efectos secundarios [1]. Como técnica de neuromodulación, la TMS tiene como objetivo la modificación del potencial de membrana de las fibras nerviosas, despolarizando o hiperpolarizando las mismas [2], siendo el agente responsable de estas actuaciones el campo eléctrico inducido por un campo magnético variable generado por una bobina. De esta forma, las características de dicho campo serán las que condicionen la eficacia de la estimulación cortical, siendo su orientación respecto a los tractos neuronales una de las variables centrales de la cuestión. En la figura 1 se ilustra cómo el campo eléctrico inducido se divide en dos componentes, la normal a la superficie cortical (E_n) y la tangencial a la misma (E_t). Será E_n la responsable de la estimulación, ya que está alineada con la dirección principal de la columna axónica, siendo ésta proporcional al coseno del ángulo que forma con la columna (θ). Así, pese a ser de mayor magnitud, E_t será de menor interés que E_n para la estimulación cortical [3]. De esta forma, estudiar cómo se diferencia el campo eléctrico al incidir sobre la superficie del telencéfalo ha sido uno de los temas centrales de la literatura.

Ya que conocer en detalle las características del campo inducido en cada punto de la superficie cortical se torna necesario para dilucidar la eficacia de la estimulación de los tractos neuronales, realizar análisis computacionales que hagan una evaluación pormenorizada de las actuaciones sobre el encéfalo es la alternativa más empleada en la

literatura para predecir y estudiar los efectos de la estimulación cortical.

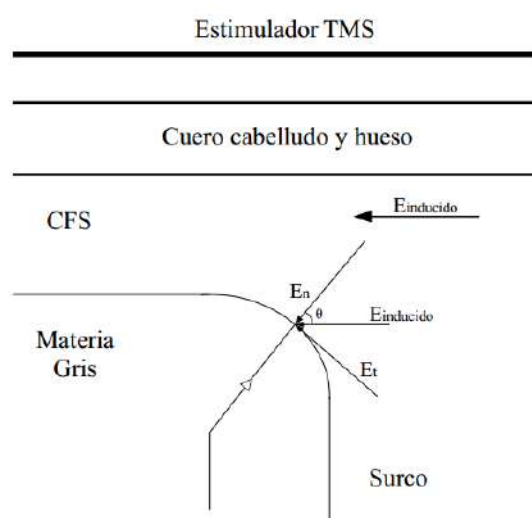


Figura 1. Descomposición del campo eléctrico en sus componentes principales.

Los modelos que se han empleado para estos estudios han evolucionado desde modelos de esferas concéntricas [4], que representan los distintos tejidos presentes en la cabeza, a modelos realistas que recogen el entramado de circunvoluciones de los hemisferios, lo cual permite estudiar en profundidad una amplia gama de parámetros relacionados con la geometría del córtex [5-7]. La construcción de estos modelos nos permite extraer las características del sujeto y sintetizar un modelo personalizado que facilite el estudio de los efectos de TMS y ajustar adecuadamente los parámetros para su dosificación [8]. Sin embargo, para estudiar aspectos no dependientes de la geometría del encéfalo, como las distribuciones de campo eléctrico inducidas por las bobinas, los modelos esféricos serán una alternativa a los modelos detallados y que implican menores costes de computación y modelado.

Un aspecto fundamental de los modelos computacionales para TMS lo representan las bobinas con las que se aplica el campo magnético, siendo la relación entre geometría y distribución de campo inducido el tema central de estudio en la literatura [9]. De estos estudios deriva que se empleen bobinas en forma de ocho de manera preferente gracias a la alta focalidad obtenida en la distribución de campo eléctrico tangencial que inducen [4], siendo ésta esencial para estimular regiones del cerebro de forma precisa. Si bien existen estudios que abordan el aspecto constructivo

de la bobina en el modelado computacional de TMS [10-12], hasta donde se ha podido revisar en la literatura, es necesario ahondar en la relación de las distintas variedades constructivas con la distribución de campo eléctrico inducida, por lo que este será el objetivo central de este trabajo.

2. Materiales y métodos

Se consideran tres bobinas con diferente nivel de detalle que interactúan con un modelo esférico de cabeza por medio del fenómeno de inducción electromagnética gobernado por las ecuaciones de Maxwell, que operadas nos proporcionan la ecuación de difusión del vector magnético potencial (1) y la ley de Gauss para el campo eléctrico (2):

$$(j\omega\sigma - \omega^2\epsilon_0\epsilon_r)A - (\mu_0\mu_r)^{-1}\nabla \times \nabla \times A = 0 \quad (1)$$

$$\nabla \cdot (-j\omega A - \nabla V) = 0 \quad (2)$$

Siendo \mathbf{A} el vector potencial magnético, σ la conductividad eléctrica, ω la frecuencia angular, V el potencial eléctrico escalar debido a las cargas superficiales acumuladas en las interfaces y $(\epsilon, \mu)_{0,r}$ la permeabilidad y permitividad eléctrica y magnética del vacío y relativa del medio.

Usando la terminología de [13], denominamos a esta aproximación al problema como formulación A-V. Alternativamente, se podría abordar la cuestión mediante el cálculo previo de \mathbf{A} para reducir el cálculo únicamente a la ecuación (2) se denomina como formulación V.

Optamos por modelar la cabeza como cinco esferas concéntricas que representan los tejidos principales involucrados: cuero cabelludo (*scalp*), hueso (*bone*), líquido cefalorraquídeo (*CFS*), sustancia gris (*GM*) y sustancia blanca (*WM*). En la tabla 1 se muestran los radios y las conductividades eléctricas para cada material, habiéndose tomado valores ampliamente utilizados en la literatura [14]:

Tejido	Radio [mm]	σ [S/m]
<i>Scalp</i>	92	0.465
<i>Bone</i>	88	0.010
<i>CFS</i>	81	1.654
<i>GM</i>	79	0.276
<i>WM</i>	75	0.126

Tabla 1. Radios y conductividades eléctricas de los tejidos.

En el ámbito clínico, la selección de la bobina del estimulador TMS se realiza en función del tejido objetivo, siendo las bobinas en ocho muy empleadas debido a su alta focalidad frente a otras configuraciones. Por ello, en este trabajo consideramos tres bobinas de este tipo con distinto nivel de detalle. La primera de ellas, B1, (véase figura 2) se representa como un conjunto de aristas concéntricas de radios: 28.6 mm, 30.7 mm, 32.8 mm, 35 mm, 37.1 mm, 39.2 mm, 41.3 mm y 43.5 mm. Serán simétricas respecto al eje y, con sus centros sobre el eje x, en las posiciones +45mm y -45 mm, ambas en z=99mm, es decir, a 7 mm de

la superficie del cuero cabelludo. Para estudiar cómo de relevante es dotar de volumen a la bobina, sobre las aristas de B1 construimos toroides de 1 mm de diámetro menor, por lo que tendremos 16 toroides concéntricos que constituyen la bobina B2 (véase figura 3). Si bien podemos encontrar en la literatura bobinas en forma de espiral se considera que la geometría introducida es equivalente según el propósito de este estudio. Para evaluar la influencia de la altura de la bobina, dividimos la sección circular del toroide en dos semi-circunferencias separadas por aristas de 4 mm que parten de sus extremos, dando lugar al último de los modelos de bobina empleados, la bobina B3 (véase figura 4).

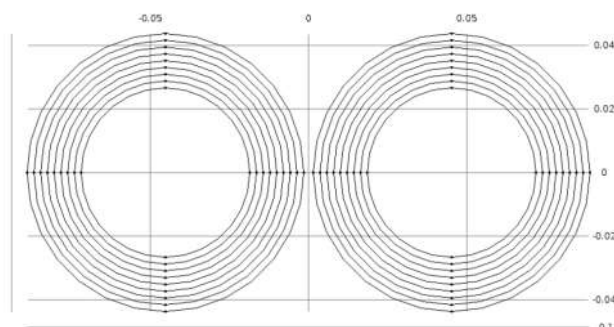


Figura 2. Representación de la bobina B1.

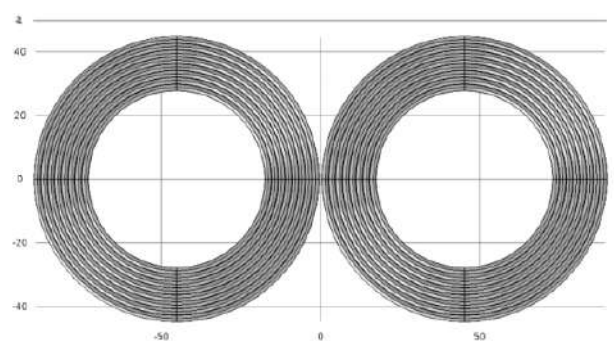


Figura 3. Representación de la bobina B2.

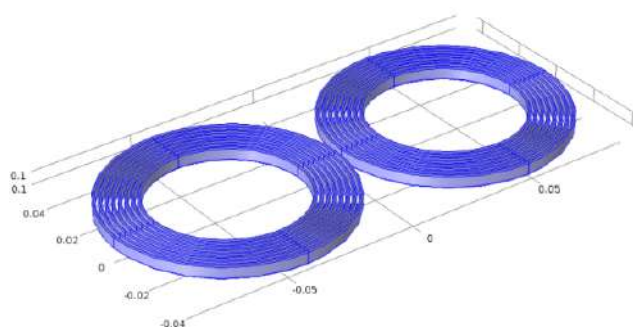


Figura 4. Representación de la bobina B3.

Para realizar el cálculo numérico de la física propuesta empleamos el método de elementos finitos (MEF), que nos permite resolver las ecuaciones diferenciales sobre nuestra geometría mediante la discretización en mallas volumétricas. El entorno elegido para su implementación será *COMSOL Multiphysics 5.2*, cuya herramienta *mef* del módulo AC/DC, resuelve del problema electromagnético (formulación A-V). Para conseguir mayor focalidad en la distribución inducida aplicaremos intensidades de signo

contrario a cada una de las bobinas, 2800 y -2800 A respectivamente, con una frecuencia de estimulación de 3500 Hz, equivalente a un periodo de onda de 286 μ s. Los valores de amperaje seleccionados son adecuados para los estimuladores TMS comerciales, cuyos valores máximos superan los 5000 A [11]. Igualmente, la frecuencia empleada es característica de estos equipos, siendo habitualmente dosificada en trenes pulsos, compuestos de estímulos espaciados con una frecuencia del orden de Hz [15]. El equipo empleado para la resolución numérica cuenta con un procesador Intel Core i5 450M y con 8 GB SDRAM de memoria gráfica.

3. Resultados

En el estudio de las distribuciones de campo eléctrico inducido nos serviremos de los valores pico de las componentes normal y tangencial de dicho campo en las interfaces *WM-GM* y *GM-CFS*, las más relevantes en cuestión de neuromodulación. Estos valores quedan recogidos en la tabla 2 mientras que las figuras 5 a 8 ilustran distribuciones de campo eléctrico generadas por las diferentes bobinas.

	WM-GM			GM-CFS		
[V/m]	B1	B2	B3	B1	B2	B3
$E_{t,pico}$	86.080	81.580	83.435	105.20	94.784	95.990
$E_{n,pico}$	5.0398	30.349	31.592	15.419	19.839	*

Tabla 2. Valores de pico del campo eléctrico inducido

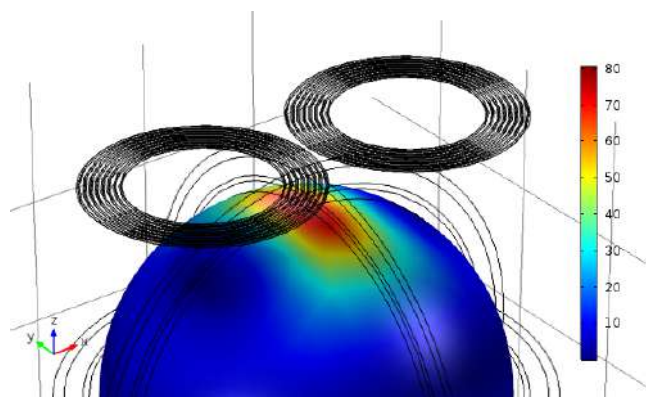


Figura 5. Et en la interfaz GM-CFS generada por B2.

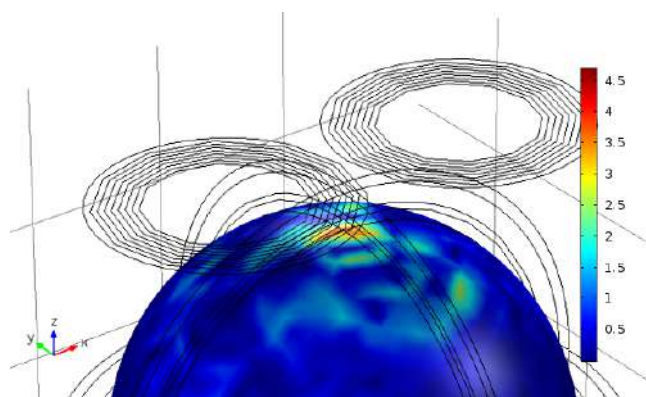


Figura 6. En en la interfaz GM-WM generada por B1.

Si estudiamos los valores de pico de E_t obtenidos en simulación, apreciamos cómo ampliar las dimensiones del modelo, es decir, pasar de las dos dimensiones espaciales de B1 a las tres dimensiones de los toroides de B2, reduce levemente el valor de pico del campo eléctrico. Por otro lado, la incorporación de la altura de la bobina, B2 frente a B3, propicia un leve incremento en dicha magnitud. Si bien estas variaciones son consistentes con la literatura [11], es en la distribución de E_n generada por las distintas bobinas donde encontramos la diferencia más significativa. Cabe señalar que la magnitud del campo eléctrico obtenida es coherente con el amperaje aplicado y con el valor para un modelo esférico. Los modelos realistas presentan valores de pico significativamente más elevados que los esféricos [16], alcanzando valores superiores a los 500 V/m [12,17].

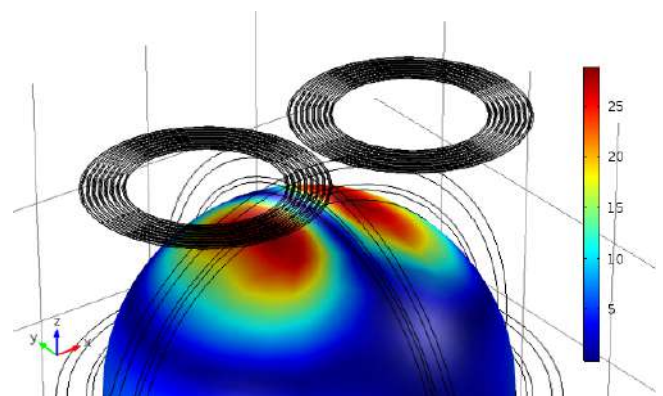


Figura 7. En en la interfaz GM-WM generada por B2.

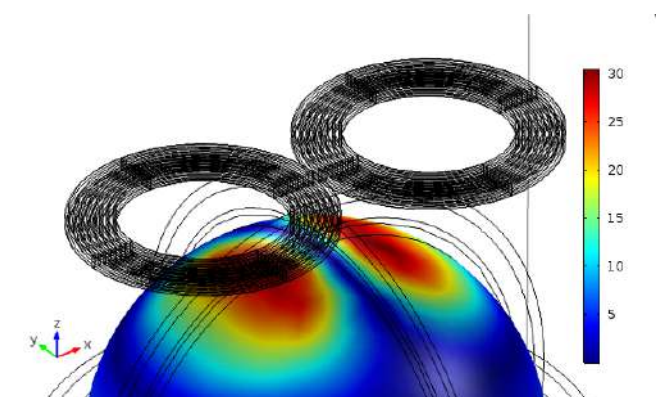


Figura 8. En en la interfaz GM-WM generada por B3.

Es reseñable recoger las dificultades que se han encontrado en la computación del modelo. El asterisco que se presenta en la tabla 2 representa una inconsistencia en los valores obtenidos para el campo eléctrico, los cuales se reproducen en las interfaces más externas. El posible origen de estas inconsistencias es la segunda derivada que aparece en la ecuación (1), que está destinada a proporcionar el campo potencial magnético. El no realizar una aproximación cuasi-estática del problema, que permite que el campo magnético asociado a las corrientes inducidas sea despreciado frente al campo magnético generado por la bobina [18], el cual depende únicamente de la geometría de la misma, se traduce en que la resolución de (1) de forma simultánea a (2) lleva asociado muy altos picos de memoria RAM demandada y errores en la resolución por parte de COMSOL.

Una posible solución para sortear esta problemática sería emplear la anteriormente descrita formulación V, la cual permite introducir la aproximación cuasi-estática en el cálculo de \mathbf{A} , por lo que consideramos de interés estudiar en el futuro el problema desde este enfoque.

4. Conclusiones

Si bien los modelos detallados del cerebro nos permiten realizar análisis y predicciones de mucho mayor alcance que los esféricos, estos son válidos para estudiar la topología de las distribuciones de campo inducidas. Variando el grado de detalle con el que se representa el bobinado, concluimos que una geometría análoga a la B2 ofrece unas distribuciones suficientemente consistentes para el estudio de TMS. Concluimos a su vez, que la formulación A-V puede tener una alternativa más económica en coste computacional en la formulación V, lo que debe llevarnos a considerar implementar códigos que nos permitan el cálculo previo del vector potencial magnético inducido en el espacio de cara a resolver el problema por esa vía. Por último, es necesario acometer el proceso de construcción de los anteriormente citados modelos realistas del cráneo para aumentar el rango de nuestros estudios.

5. Referencias

- [1] P. M. Rossini, P. M. Rossini, S. Rossi, and S. Rossi, "Transcranial magnetic stimulation: diagnostic, therapeutic, and research potential," *Neurology*, vol. 68, p. 484, 2007.
- [2] S. Luan, I. Williams, and K. Nikolic, "Neuromodulation: present and emerging methods," *Front.*, 2014.
- [3] T. D. Krieg, F. S. Salinas, S. Narayana, P. T. Fox, and D. J. Mogul, "Computational and experimental analysis of TMS-induced electric field vectors critical to neuronal activation," *J. Neural Eng.*, vol. 12, no. 4, 2015.
- [4] A. Thielscher and T. Kammer, "Electric field properties of two commercial figure-8 coils in TMS: Calculation of focality and efficiency," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 115, no. 7, pp. 1697–1708, 2004.
- [5] A. Opitz, W. Legon, A. Rowlands, W. K. Bickel, W. Paulus, and W. J. Tyler, "Physiological observations validate finite element models for estimating subject-specific electric field distributions induced by transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex," *Neuroimage*, vol. 81, pp. 253–264, 2013.
- [6] A. Thielscher, A. Opitz, and M. Windhoff, "Impact of the gyral geometry on the electric field induced by transcranial magnetic stimulation," *Neuroimage*, 2011.
- [7] M. Windhoff, A. Opitz, and A. Thielscher, "Electric field calculations in brain stimulation based on finite elements: an optimized processing pipeline for the generation and usage of accurate individual head," *Hum. Brain Mapp.*, 2013.
- [8] A. Karabanov, A. Thielscher, and H. R. Siebner, "Transcranial brain stimulation: Closing the loop between brain and stimulation," *Curr. Opin. Neurol.*, vol. 29, no. 4, pp. 397–404, 2016.
- [9] Z. De Deng, S. H. Lisanby, and A. V. Peterchev, "Electric field depth-focality tradeoff in transcranial magnetic stimulation: Simulation comparison of 50 coil designs," *Brain Stimul.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–13, 2013.
- [10] F. Fanjul-vélez, I. Salas-garcía, N. Ortega-quijano, and J. L. Arce-diego, "FDTD-based Transcranial Magnetic Stimulation model applied to specific neurodegenerative disorders," *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 118, no. 1, pp. 34–43, 2014.
- [11] P. I. Petrov, S. Mandija, I. E. C. Sommer, C. A. T. Van Den Berg, and S. F. W. Neggers, "How much detail is needed in modeling a transcranial magnetic stimulation figure-8 coil: Measurements and brain simulations," *PLoS One*, vol. 12, no. 6, pp. 1–21, 2017.
- [12] F. S. Salinas, J. L. Lancaster, and P. T. Fox, "Detailed 3D models of the induced electric field of transcranial magnetic stimulation coils," *Phys. Med. Biol.*, vol. 52, no. 10, 2007.
- [13] B. Granula, K. Porzig, and H. Toepfer, "A Comparison between an AV and V Formulation in Transcranial Magnetic Stimulation," *Comsol Conf.*, 2013.
- [14] T. A. Wagner, M. Zahn, A. J. Grodzinsky, and A. Pascual-Leone, "Three-dimensional head model Simulation of transcranial magnetic stimulation," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 51, no. 9, pp. 1586–1598, 2004.
- [15] S. Rossi, M. Hallett, P. Rossini, and A. Pascual-Leone, "Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research," *Clinical*, 2009.
- [16] A. Thielscher, A. Opitz, and M. Windhoff, "Impact of the gyral geometry on the electric field induced by transcranial magnetic stimulation," *Neuroimage*, 2011.
- [17] I. Laakso, A. Hirata, and Y. Ugawa, "Effects of coil orientation on the electric field induced by TMS over the hand motor area," *Phys. Med. Biol.*, vol. 59, no. 1, pp. 203–218, 2014.
- [18] N. Makarov *et al.*, *Preliminary Upper Estimate of Peak Currents in Transcranial Magnetic Stimulation at Distant Locations From a TMS Coil*, vol. 63, no. 9, 2016.

Biofónica

Jueves, 22 de noviembre

Methodology to improve optical hyperthermia technique application in biological samples using Silica

O. Casanova Carvajal^{1,2}, Michael Zeinoun^{1,2}, Esther Agudo¹, Gema de Vargas¹, Milagros Ramos^{1,2}, J. Serrano Olmedo^{1,2}

¹ Center for Biomedical Technology (CTB), Universidad Politécnica de Madrid (UPM),
Campus pus de Montegancedo, 28223, Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain.

² CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Spain.

oscar.casanova@ctb.upm.es, michael.zeinoun@ctb.upm.es, esther.agudo.garcia@alumnos.upm.es,
gemadvargas@gmail.com, milagros.ramos@ctb.upm.es, josejavier.serrano@ctb.upm.es.

Abstract

Silica is considered a highly biocompatible material and an excellent light dispersant agent. Its incorporation in solutions at optimized proportions significantly improved optical hyperthermia technique by decreasing concentrations of gold nanoparticles, radiation power, and irradiation period. In-vitro tests with cancerogenic or non-cancerogenic cell lines were obtained showing a clear difference in the effect of Silica on cancer cells compared to non-carcinogenic cells. Results proved the biocompatibility of Silica lowering the cytotoxicity and not harming biological tissues and cells. It was also obtained that optical properties can increase the effect of light to heat transformation in optical hyperthermia, and repair the decrease of GNRs concentration by its light dispersing abilities.

1. Introduction

Hyperthermia refers to the application of heat to destroy malicious cells by apoptosis induction through protein denaturation and rupture of cellular membranes [1, 2]. In Optical Hyperthermia laser light is the main used source to its characteristics of monochromaticity, coherence, and colimitation [3], used in a near infrared region (or NIR) wavelength [4]. There are other Optical Hyperthermia technics, such as photodynamic therapy [5], or photochemotherapy, based on the employment of chemical photosensitizers. The use of carbon nanotubes [6] is also proved to be effective because of their characteristics of absorbing visible light, NIR laser light, and radio frequency irradiation. Another technique, the photothermal therapy [5] (PTT), consisting in the use of photo absorbing agents of natural chromophores or external added dye molecules, requires high NIR irradiation energies, an adjacent element had to be introduced to increase light for heat transformation GNRs (gold nanorods), a component having the optical characteristics desired for optical hyperthermia. In these experiments Silica (SiO₂) an oxidized form of silicon [7,8], was used. These silicon dioxide microparticles, are the basis for a great deal of biomedical research due to their stability, low toxicity, and ability to function with a range of molecules and polymers [9], and can be mixed with biological tissues, such as CT2A mouse glioma cells, a mouse brain tumor model[10], and MC3T3, a normal

cell extracted from the skullcap of the mouse, an osteoblast precursor cell line [11]. Also, due to its tetrahedral structure, the melting point of silicon dioxide is very high, allowing for breaking strong silicon-oxygen covalent bonds at very high temperatures, it reflexes light, it is very hard and rigid, and it is insoluble in water and in all organic solvents [9] [12]. Silica is a component commonly used in optical hyperthermia, it is the main element of the fabrication of gold nanoshells [5] [13], it is used in some experiments as a coat for GNRs [14], in light-emitting applications due to its robust electroluminescence [11] [14], energy, and electronics field for lithium battery application and silicon nanowires, nanotubes and other silicon formulation [11] [15], also it is useful as heterogeneous nano-photocatalyst [11] [16, 17].

In the following experiments, Silica was tested in the same solution as the GNRs, only by placing them in the same medium with CT2A and MC3T3 biological cells and conduct the radiation procedure to study the efficiency of the treatment. The objective was increasing cell mortality level to its maximum effectivity to reach a total selective cell destruction, and and to show the contribution of Silica in increasing the efficiency of optical hyperthermia on biological cells. Results demonstrated the purpose of the investigation, and in addition, there was a decrease in GNR concentration in GNR-Silica solution, radiation time, radiating beam power even with maintenance of cell selectivity.

2. Materials and Methods

Silica is being used widely in modern medicine, more specifically in nanomedicine because of its tunable porosity, pore size, particle size, excellent biocompatibility, and high specific surface area [18]. Some *in vivo* studies showed that the bigger the size of the Silicon particle used, the less toxicity it causes, the larger it gets higher degradation rate and a better biocompatibility were obtained [19]. Recent studies showed significant toxicity difference between silicon nanoparticles and microparticles, based on an oral exposure of silica in experimental rats followed by a determination of silica tissues in blood, liver, kidneys, and testis [20]. it has not been possible to improve-silica particles to increase biocompatibility and reduce cytotoxicity for *in vivo* studies [21]. However, *in vitro*

studies Silica has showed very low toxicity when placed in contact with biological cells, maintaining their cellular integrity demonstrated by cellular morphology, viability, and intact mitotic trafficking [22].

The GNRS used in the experiments were commercial GNRS (C12-10-808-TPG-PBS-50 Functionalized Gold Nanorods, Nanopartz) with a peak SPR (longitudinal) centered at 808 nm, totally tuned with the laser. They had an axial diameter of 10 nm and a length of 40 nm. The optical density of the original stock was 50, with a concentration of 1.75 mg / ml.

Cell culture: CT-2A mouse astrocytoma cells were obtained as a generous gift from Prof. T.N. Seyfried (Boston, MA, USA). Tumor cells were grown in RPMI 1640 medium (Gibco, Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (R10) in a humidified atmosphere containing 95% air and 5% CO₂ at 37 °C. Upon reaching confluency, the cells were trypsinized and collected. The pellet was resuspended in RPMI 1640 medium.

MC3T3 mouse osteoblast cells were also obtained as a generous gift from Prof. T.N. Seyfried. Osteoblast cell line was grown in DMEM High Glucose medium supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (R10) in a humidified atmosphere containing 95% air and 5% CO₂ at 37 °C. Upon reaching confluency, the cells were trypsinized and collected. The pellet was resuspended in DMEM High Glucose medium.

After sewing the CT2A and MC3T3 in wells of 4, and placed in the incubator for 24 hours, the protocols were as follows

Control: The purpose of this experiment was made to study the cell mortality due to laser radiation, to test cells are not dying without nanoparticles and mortality percentage should be around 6%. The solution was prepared by 50µL of distilled water and 450µL of medium in the well where the MC3T3 or CT2A cells were previously sewed (DMEM medium was used for MC3T3 cells and RPMI for CT2A Cells). Then placed in the incubator for 1 hour, and then radiated by laser.

Silica: A dilution of SiO₂ was centrifugated 5 mins at 1450 rpm to remove remains, then 100µL were placed in the well where the CT2A or MC3T3 cells were sewed, along with 400 µL of medium, then placed in an incubator for 1h, followed by laser radiation phase. The purpose of this experiment was to test the cell mortality with only silica microparticles, which should be around 12%.

Gold nanoparticles: The GNRS used in the experiments possess a plasmon characteristic of 810 nm, and it was diluted before being placed with the sewed cells, an amount of 400µL, in addition to 50 µL distilled water and 50 µL medium. Then the well was placed in the incubator for 1h, followed by laser radiation. The purpose of this experimentation category was to test the cell mortality with only GNRS, which should be around 70%.

Silica and gold nanoparticles: In this phase, it was added 100µL of Silica microparticles to the wells where the cells

were sewed, followed by 400µL of diluted gold nanoparticles, and the well was taken to the incubator, where it was kept for 1 hour followed by laser radiation. The cell mortality following laser exposure in this phase should be 100%.

Optical Hyperthermia Device: The continuous laser wave (MDL H808, PSU-H-LED power source; (Changchung New Industries, Changchun Jilin, China) worked at 808 nm, with a maximum output power of 5 W, a beam height from base of 29 mm, a beam diameter with an aperture of 5–8 mm³, and laser head dimensions of 155×77×60 mm³. The laser was connected to the system via a multimode optical fiber with a core diameter of 600 µm, a length of 1.5 m, and a power transmission of 90–99% (600 µm MM fiber; Changchung New Industries). The optical fiber was fixed to the stereotaxic being suspended vertically through a collimation lens (78382, Newport, Irvine, CA) with the downward facing at power density of 900 mW / cm² using a Newport power meter model 843-R with a Newport 818-SL photodetector.

3. Results

3.1. Cell Mortality *in vitro* experiments

CT2A: Figure 1 shows the results obtained from cells that were irradiated at 900 mW within 10 minutes from various experimental groups. The cell death rate of the cancer cells in GNRS plus silica group was too low compared to the results of two other radiated powers.

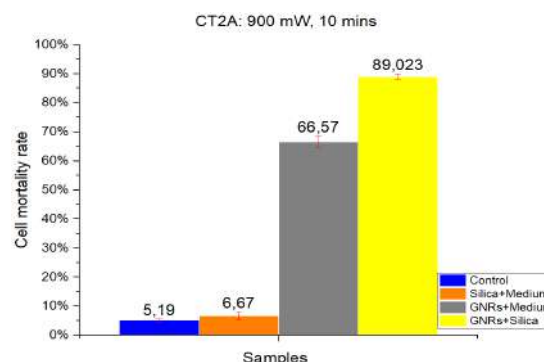


Figure 1. CT2A mortality rate at a radiation power of 900mW/cm² for a radiation period 10 minutes.

MC3T3: Figure 2 shows the mortality rate decrease by more than 15% following the radiation power decrease, which was considered as a positive result pointing out a decrease in cell mortality rate of healthy cells.

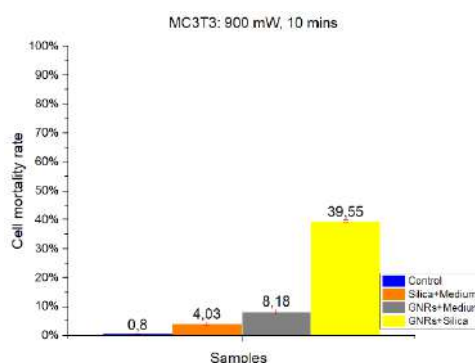


Figure 2. MC3T mortality rate at a radiation power of 900mW/cm² for a radiation period 10 minutes.

When comparing the graphs obtained from CT2A cell line with the ones from MC3T3, it can be noticed the more the power the lower mortality rate resulted. However, the decrease in mortality rate of cancer cells was lower than that of healthy cells.

Experimental group	Control	Silica	GNRs	Silica+ GNRs
1 Watt	29.76°C (±0.53)	31.75°C (±0.5)	40.39°C (±0.71)	44.57°C (±0.07)
900 mWatt	28.01°C (±0.81)	29.55°C (±0.67)	41.99°C (±0.15)	44.29°C (±0.94)

Table 1. Temperature representation of various experimental groups at laser fluences of 1W and 900 mW for a 10 minute radiation

Table 1 shows, that the hyperthermia temperature was reached with both the GNRs and with silica plus GNRs, showing how the optical properties of the gold nanoparticles were achieved generating heat to the environment following the absorption of laser light. The silica microparticles contribution was also showed, optimizing the hyperthermia system by dispersing laser light which results in the adjacent nanorods being able to absorb more light, causing greater heat generation.

The temperature values of Control and Silica were higher for a radiation power of 1 W, however in the case of Nanorods and Silica plus Nanorods, they reached an approximated value of 44 ° C (hyperthermia temperature), being slightly higher in 1 W graphs.

4. Discussion

To achieve the decrease of gold toxicity and laser radiation effect on biological tissues, three variables were modified: GNRs concentration, radiation period, and radiation power. In previous studies, , the radiation time applied was 30 minutes, having a radiation power of 1W/cm² in a solution of GNRs of optical density equal to 1 (0.05 mg/ml), a cell mortality rate of approximately 90%.

The decrease of GNRs was vital to lower toxicity GNR core was non-toxic when placed in contact with biological cells, but GNR became toxic owing to their aggregation or because of the biological nanorods coating. In a study conducted by Abdoon *et al.* to evaluate the cytotoxic effect of intratumorally GNR's injected in 10 dogs and 6 cats [23], any signs of toxicity were detected at blood samples taken from the subjects. A slight increase was noticed in the levels of total bilirubin, direct bilirubin, alkaline phosphatase, albumin, urea nitrogen, uric acid, and creatinine. One month after the injection of GNRs, in comparison with levels before treatment, showed that values remained within the normal range. In a study, by Alkilani *et al.* focused on the potential GNRs carry and

their interaction with biological cells [24], concluded that the amount of GNRs inserted should be an accurate quantity: *in vitro anything at a sufficient dose, can kill cells, even water*, and in relation to toxicity in living organisms, biodegradable elements were considered to avoid GNRs accumulation in vital organs. This was one of the reasons gold concentration was lowered by 20%, a value of 0.04 mg/ml (0.05x80%).

Silica has been placed in contact with biological and human tissues in many experiments, it is *generally recognized as safe* by the United States Food and Drug Administration (FDA). Silica nanoparticles in the form of Cornell dots (C dots) received FDA approval for stage 1 human clinical trial for targeted molecular imaging [25, 26] Silica nanoparticles [27], were used as drug carriers for poorly soluble drugs and in gene delivery for viral or non-viral systems. Zhou *et al.*, considered the biocompatibility characteristics of silica, proved by its low toxicity rate at 24 and 48 h.

Silica is used in GNPs coating of gold nanoparticles, application of gold-core silica shell nanoparticles have shown in imaging and therapy, where gold nano-rods, spheres, cages, and stars were coated by silica, and then radiated by NIR laser, the enhancement of light to heat conversion of the particles, in comparison to particles without silica coating. In this investigation light density increase plus light dispersing characteristics shown by the spectrophotometric curves as well as its mix with GNRs silica was used as a co-agent, to compensate the effect of the reduced GNRs percentage in the solution.

Silica optical properties, allowed the reduction of optical hyperthermia toxicity by decreasing the GNRs concentration from 100 to 80%, in addition radiation time and irradiated power decreased from 30 to 10 minutes and from 1Watt to 900mWatt, and cell mortality rate was maintained to 90%. GNPs and laser radiation reduction permitted that the negative influence on biological tissues was lowered but cell mortality rate was maintained. These results proved Silica was not only a biocompatible agent and does not harm biological tissues and cells but it also has optical properties that can increase the effect of light to heat transformation in optical hyperthermia, and repair the decrease of GNRs concentration by its light dispersing abilities.

5. Conclusion

The results of the experiments demonstrated the utility of Silica microparticles in optical hyperthermia, and its contribution in maintaining therapy efficiency followed by decreasing GNRs concentration to 20%, lowering radiation time to 66%, irradiated power density to 10%, and keeping cell mortality at 90%. It was also proved that Silica is a very important agent in light to heat transformation in optical hyperthermia, and its advantages should be even more exploited by using more biological friendly elements in future cancer therapies.

6. References

- [1] E. S. Day *et al.*, "Nanoshell-mediated photothermal therapy improves survival in a murine glioma model," *J. Neurooncol.*, vol. 104, no. 1, pp. 55–63, 2011.
- [2] F. Luchetti *et al.*, "Hyperthermia triggers apoptosis and affects cell adhesiveness in human neuroblastoma cells," *Histol. Histopathol.*, vol. 18, no. 4, pp. 1041–1052, 2003.
- [3] M. Z. Khalid, "Mechanism of Laser/light beam interaction at cellular and tissue level and study of the influential factors for the application of low level laser therapy," pp. 1–20, 2016.
- [4] S. L. Jacques, "Optical properties of biological tissues: A review," *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 11, 2013.
- [5] X. Huang, P. K. Jain, and I. H. El-sayed, "Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles," *Lasers in Medical Science* pp. 217–228, 2008.
- [6] D. K. Chatterjee, P. Diagaradjane, and S. Krishnan, "Nanoparticle-mediated hyperthermia in cancer therapy," *Ther. Deliv.*, vol. 2, no. 8, pp. 1001–1014, 2011.
- [7] L. Vaccaro *et al.*, "Oxidation of silicon nanoparticles produced by nanosecond laser ablation in liquids," *AIP Conference Proceedings* vol. 174, no. 2014, pp. 174–178, 2014.
- [8] J. T. Wright *et al.*, "Thermal oxidation of silicon in a residual oxygen atmosphere—the RESOX process—for self-limiting growth of thin silicon dioxide films," *Semicond. Sci. Technol.*, vol. 31, no. 10, p. 105007, 2016.
- [9] I. Manavitehrani, A. Schindeler, and M. Parviz, "Nanomedicine & Nanotechnology Open Access Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Modification and Applications Nanomedicine & Nanotechnology Open Access," pp. 1–10, 2018.
- [10] E. Binello, Z. A. Qadeer, H. P. Kothari, L. Emdad, and I. M. Germano, "Stemness of the CT-2A immunocompetent mouse brain tumor model: Characterization in vitro," *J. Cancer*, vol. 3, no. 1, pp. 166–174, 2012.
- [11] E. Czekanska, M. Stoddart, R. Richards, and J. Hayes, "In search of an osteoblast cell model for in vitro research," *Eur. Cells Mater.*, vol. 24, pp. 1–17, 2012.
- [12] H. Chang and S.-Q. Sun, "Silicon nanoparticles: Preparation, properties, and applications," *Chinese Phys. B*, vol. 23, no. 8, p. 088102, 2014.
- [13] S. J. Madsen, "Optical methods and instrumentation in brain imaging and therapy," *Opt. Methods Instrum. Brain Imaging Ther.*, no. September 2013, pp. 1–277, 2013.
- [14] C. Gui and D.-X. Cui, "Functionalized gold nanorods for tumor imaging and targeted therapy," *Cancer Biol. Med.*, vol. 9, no. 4, pp. 221–33, 2012.
- [15] C. Zhang *et al.*, "White light emission from silicon nanoparticles," eprint arXiv:1703.10287, 03/2017.
- [16] E. C. Garnett, W. Liang, and P. Yang, "Growth and electrical characteristics of platinum-nanoparticle-catalyzed silicon nanowires," *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 19, pp. 2946–2950, 2007.
- [17] K. Cendrowski *et al.*, "Synthesis, characterization, and photocatalytic properties of core/shell mesoporous silica nanospheres supporting nanocrystalline titania," *J. Nanoparticle Res.*, vol. 13, no. 11, pp. 5899–5908, 2011.
- [18] Y. Wang *et al.*, "Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 11, no. 2, pp. 313–327, Feb. 2015.
- [19] Q. He, Z. Zhang, F. Gao, Y. Li, and J. Shi, "In vivo biodistribution and urinary excretion of mesoporous silica nanoparticles: Effects of particle size and PEGylation," *Small*, vol. 7, no. 2, pp. 271–280, 2011.
- [20] C. L. LIANG *et al.*, "Subchronic Oral Toxicity of Silica Nanoparticles and Silica Microparticles in Rats," *Biomed. Environ. Sci.*, vol. 31, no. 3, pp. 197–207, Mar. 2018.
- [21] J. Wang *et al.*, "Mesoporous silica shell alleviates cytotoxicity and inflammation induced by colloidal silica particles," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 116, pp. 334–342, Apr. 2014.
- [22] Hamsa Jaganathana and Biana Godina, "Biocompatibility Assessment of Si-based Nano- and Micro- particles," *NIH Public Access*, vol. 40, no. 6, pp. 1301–1315, 2013.
- [23] A. S. Abdoon *et al.*, "Efficacy and toxicity of plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanorods (GNRs) against mammary tumors in dogs and cats," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 12, no. 8, pp. 2291–2297, 2016.
- [24] A. M. Alkilany, L. B. Thompson, S. P. Boulos, P. N. Sisco, and C. J. Murphy, "Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 64, no. 2, pp. 190–199, 2012.
- [25] S. Bhogle, G. Mistri, B. Vesper, S. Lacey, J. Radosevich, and M. Colvard, "Identification of cell thermal microenvironment in porcine skin during laser cauterization," *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.*, vol. 314, pp. 19–45, Feb. 2017.
- [26] S. Y. Holguin, N. N. Thadhani, and M. R. Prausnitz, "Effect of laser fluence, nanoparticle concentration and total energy input per cell on photoporation of cells," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 14, no. 5, pp. 1667–1677, Jul. 2018.
- [27] Y. Zhou *et al.*, "Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery," *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 8, no. 2, pp. 165–177, 2018.

Análisis de propiedades espectroscópicas de fluoróforos utilizados en el diagnóstico clínico

A. Expósito Monar, 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 (Cantabria), España, fanjulf@unican.es, arcedj@unican.es

Resumen

Las técnicas ópticas se emplean habitualmente en la práctica médica para el tratamiento y diagnóstico de patologías, incluyendo aplicaciones de cirugía. Entre sus ventajas frente a técnicas que emplean radiaciones en otras bandas del espectro electromagnético u ondas acústicas, se encuentran su carácter no ionizante, no invasivo o mínimamente invasivo, la capacidad de localización precisa y la ausencia de contacto. Una de las técnicas diagnósticas más relevantes utiliza el fenómeno de la fluorescencia aplicada al ámbito biomédico. La fluorescencia es un fenómeno producido por la interacción entre un material y la radiación óptica, de tal forma que es capaz de reemitir radiación a longitudes de onda distintas, habitualmente superiores. Las características diagnósticas dependen fuertemente del tipo de fluoróforo empleado, que debe también cumplir restricciones de biocompatibilidad para su aplicabilidad biomédica. Este trabajo se focaliza en dos fluoróforos aprobados para uso clínico: azul de metileno y verde de indocianina. El objetivo consiste en analizar experimentalmente las características espectrales, fundamentalmente de excitación, lo que resulta imprescindible para su uso eficiente en la práctica clínica. Se analiza esta dependencia espectral con diferentes disolventes y a diferentes concentraciones. De esta forma es posible conocer los rangos de longitudes de onda óptimos para su aplicación clínica diagnóstica.

1. Introducción

La óptica aplicada a la biomedicina requiere del estudio de la interacción luz-tejido biológico. Desde el punto de vista óptico, los tejidos se pueden definir como medios turbios multicapa, es decir, presentan, además de absorción, un alto esparcimiento. Cuando un haz de luz incide en un tejido biológico ocurren cuatro fenómenos físicos básicos de manera mesoscópica: reflexión, transmisión, esparcimiento y absorción. Estos fenómenos condicionan la propagación de la radiación óptica en medios biológicos. Para estimar su influencia, y caracterizar adecuadamente un tejido, se pueden definir propiedades ópticas como el índice de refracción, el coeficiente de absorción, el coeficiente de esparcimiento y la anisotropía de esparcimiento [1].

La absorción es una interacción cuántica de gran importancia, ya que condiciona la capacidad de penetración de la radiación incidente. En consecuencia, se puede utilizar esta propiedad para aplicaciones de diagnóstico o tratamiento, según convenga. Resulta especialmente interesante la llamada ventana terapéutica, que comprende un rango aproximado de longitudes de onda entre los 600 y los 1300 nm. En esta ventana terapéutica los componentes básicos de la mayor parte de los tejidos biológicos presentan

una baja absorción, con lo que la profundidad de penetración de la radiación óptica aumenta.

El fenómeno de la fluorescencia se emplea en biomedicina fundamentalmente para diagnóstico de tejidos biológicos [2]. Algunas sustancias intrínsecas de los tejidos biológicos son capaces de producir el efecto de la fluorescencia, que en este caso se denomina auto-fluorescencia. Para marcar aquellos tejidos que no contienen materiales fluorescentes, o al menos no con alta eficiencia cuántica, se utilizan fluoróforos extrínsecos. Este segundo escenario es el más habitual en las aplicaciones médicas de la fluorescencia.

En este trabajo se pretenden caracterizar dos fluoróforos extrínsecos aprobados para uso clínico: azul de metileno y verde de indocianina. Ambos poseen la aprobación de la FDA (Food and Drug Administration) americana, y son utilizados habitualmente en la práctica médica, especialmente para la detección de tejidos tumorales. En la caracterización de fluoróforos es fundamental conocer su respuesta espectral, pues es esta respuesta la que se emplea posteriormente como elemento diferenciador en el diagnóstico. Además, esta respuesta espectral determina la eficiencia cuántica, y por lo tanto la irradiancia de la radiación emitida, lo que constituye un aspecto clave del diseño de equipamiento destinado a medidas de fluorescencia. De esta forma se puede facilitar la localización de puntos concretos de la anatomía que de otra forma sería mucho más difícil, o incluso imposible, localizar.

Estos fluoróforos bajo análisis son sólidos en estado puro, lo que hace necesario el uso de disolventes para su uso clínico. La administración clínica de los mismos suele ser sistémica, intravenosa, o en algunas ocasiones particulares tópica. En cualquier caso, el medio de administración suele ser líquido o en forma de aerosol. La concentración de fluoróforo y el tipo de disolvente generan diferentes interacciones, que dan lugar a variaciones significativas en el espectro de excitación. Estas variaciones modifican en gran medida las características de la radiación absorbida y emitida, lo que hace cambiar por completo tanto la eficiencia como la configuración espectral del sistema diagnóstico de detección. En este trabajo se presenta la caracterización espectral de los fluoróforos azul de metileno y verde de indocianina con diferentes concentraciones y disolventes, incluyendo entre estos últimos distintas polaridades para analizar su efecto.

El trabajo se organiza la siguiente forma. En la siguiente sección aparecen los principios fundamentales del fenómeno de la fluorescencia y de los fluoróforos empleados. La

sección tercera contiene una descripción de la metodología y equipamiento empleados. En la sección cuarta se presentan los resultados experimentales y la correspondiente discusión. Las conclusiones están incluidas en la sección quinta.

2. Fluorescencia y fluoróforos

La absorción de la luz, responsable primera de la fluorescencia, se produce principalmente a través de tres procesos básicos: transiciones electrónicas (entre átomos y moléculas, típicamente entre el ultravioleta y el infrarrojo), transiciones vibracionales (solo entre moléculas, región infrarroja) y transiciones rotacionales (solo entre moléculas, infrarrojo y longitudes de onda submilimétricas). La eficiencia de la absorción de la luz a una longitud de onda (λ) por un medio absorbente está caracterizada por la absorbancia $A(\lambda)$ o por la transmitancia $T(\lambda)$ definidas en las ecuaciones 1 y 2 respectivamente [3].

$$A(\lambda) = \log \left(\frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} \right) = -\log T(\lambda) \quad (1)$$

$$T(\lambda) = \frac{I_{\lambda}}{I_{\lambda}^0} \quad (2)$$

Donde I_{λ}^0 y I_{λ} representan la intensidad luminosa media de los haces incidente y transmitido, respectivamente. En muchos casos, la absorbancia sigue la ley de Beer-Lambert:

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \cdot l \cdot c \quad (3)$$

Donde $\varepsilon(\lambda)$ es el coeficiente de absorción molar expresado en L/(mol cm), c es la concentración de la especie absorbida en mol/L y l es la longitud del camino óptico expresado en cm.

Una vez que la molécula ha sido excitada mediante la absorción de un fotón puede volver al estado inicial mediante la emisión de fluorescencia. El diagrama de Perrin-Jablonski (Figura 1) muestra los procesos posibles: absorción de un fotón, conversión interna (IC), relajación vibracional (VR), fluorescencia, cruce intersistémico (ISC), fosforescencia, fluorescencia retardada y transición triplete (T)-tripleto.

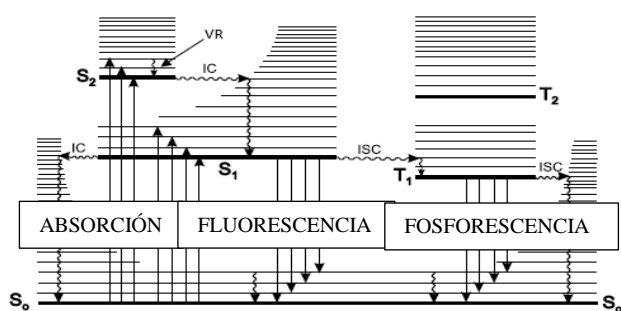


Figura 1. Diagrama de Perrin-Jablonski.

La fluorescencia es la emisión de fotones que acompaña la relajación singlete S₁→S₀. El espectro de fluorescencia se localiza a una longitud de onda mayor (menor energía) que el espectro de absorción, causada por la pérdida de energía en el estado excitado debido a la relajación vibracional, lo que se conoce como regla de Stokes. La diferencia entre el máximo de la primera banda de absorción y el máximo de fluorescencia se denomina desplazamiento de Stokes. Desde

un punto de vista práctico, la detección de un fluoróforo es más fácil cuando mayor sea el desplazamiento de Stokes.

La respuesta espectral de un fluoróforo se obtiene mediante un espectrofotómetro o espectrómetro. Se excita la muestra mediante una lámpara que emite un flujo de fotones prácticamente constante. A la cantidad de fotones contantes incidentes en la muestra se la denota como N₀, y la concentración de fluoróforo con [A], ambos en mol/L. El proceso descrito se puede expresar mediante la ecuación química:



Al producirse una iluminación continua, [A*] permanece constante, lo que significa que [A*] es un estado estable. Si se producen mediciones bajo estas condiciones se dice que son mediciones de estado estable. Consecuentemente el cambio de ratio [A*] es igual a cero [4]:

$$\frac{d[A^*]}{dt} = 0 = k_a \alpha N_0 - (k_r^s + k_{nr}^s)[A^*] \quad (5)$$

Donde $k_a \alpha N_0$ representa la cantidad de fotones absorbidos por unidad de volumen y por unidad de tiempo. La cantidad de fotones emitidos por unidad de tiempo y de volumen se puede calcular como:

$$i_F = k_r^s [A^*] = \alpha I_0 \frac{k_r^s}{(k_r^s + k_{nr}^s)} = \alpha I_0 \Phi_F \quad (6)$$

Es necesario seleccionar el marcador de fluorescencia (fluoróforo extrínseco) dependiendo de su finalidad. Algunos ejemplos son: la protoporfirina IX (utilizada en terapia fotodinámica) [5], la fluoresceína, el azul de metileno y el verde de indocianina. Se han seleccionado los dos últimos para su caracterización durante el presente trabajo. Los fluoróforos extrínsecos tienen una amplia aplicación en el ámbito biomédico. Una aplicación concreta es en la detección de tejidos tumorales. Al captar estas sustancias los tejidos tumorales presentan el fenómeno de fluorescencia, al contrario que los tejidos sanos.

El azul de metileno (MB), con número CAS 61-73-4, es un compuesto químico heterocíclico aromático, orgánico y soluble en agua (40 g/L) y en etanol (15 g/L). Además, posee un peso molecular de 319,85 g/mol y a temperatura superior a 180°C se descompone [6]. Para su caracterización como fluoróforo es importante determinar sus longitudes de onda de excitación y de emisión que están en torno a los 665 nm y los 692 nm, respectivamente, ambas dentro del rango de luz visible (400-780 nm), sabiendo que el rango de absorbancia se encuentra entre 500 y 700 nm y el de emisión entre 650 y 850 nm. Dependiendo del disolvente utilizado se generará distinta respuesta de excitación y de emisión. El disolvente más básico para utilizar es el agua destilada. Durante este trabajo se va a realizar también la caracterización del azul de metileno utilizando etanol para analizar la influencia de los disolventes en los espectros de excitación de fluoróforos.

El verde de indocianina (ICG, IR 125), con número CAS 3599-32-4, contiene menos del 5% de yoduro de sodio, es un colorante de tricarbocianina hidrofílico. Su peso molecular es de 774,967 g/mol. Para su caracterización como fluoróforo es importante determinar sus longitudes de onda

de excitación y de emisión que están en torno a los 790 nm y los 812 nm, respectivamente, ambas dentro del rango del infrarrojo cercano, sabiendo que el rango de absorción se encuentra entre 600 y 825 nm y el de emisión entre 750 y 900 nm [7]. El ICG no tiene un aumento lineal de la absorción al aumentar su concentración en dilución. Además, tiende a degradarse con la exposición a la luz, esta fotodegradación depende también de la concentración de ICG en la muestra. La absorción del ICG disuelto en agua destilada está caracterizada por la contribución de monómeros y dímeros. La absorción es dependiente de la concentración, en tanto en cuanto el comportamiento del marcador se ve determinado por la formación de dímeros. Se va a realizar un estudio empleando etanol en vez de agua destilada, viendo la variación en los patrones de absorción, comprobando que con el uso de este disolvente la absorción no es tan fuertemente dependiente de la creación de dímeros y monómeros.

3. Metodología y equipo experimental

Para analizar el efecto de la concentración se han realizado diluciones de azul de metileno y verde de indocianina en agua destilada. Para el azul de metileno se ha estudiado el rango de concentraciones desde 5 a 200 μM y el verde de indocianina entre las concentraciones 6,5 y 100 μM . Preparadas las diluciones se obtiene experimentalmente el espectro de excitación de todas ellas, con objeto de observar las posibles limitaciones que presenta utilizar agua destilada como disolvente. Después, se han realizado experimentos con el azul de metileno y verde de indocianina disuelto en 50% etanol, viendo la influencia de la polaridad del disolvente en el espectro de excitación. Además, el azul de metileno se ha disuelto también en etanol puro para completar el estudio. Para estos disolventes se han preparado diluciones del azul de metileno a concentraciones 5, 25 y 50 μM . Para el verde de indocianina las concentraciones de fluoróforo han sido de 6,5, 40 y 65 μM . Aunque podría ser también de interés, en este trabajo y con el presente montaje no es posible la medida del tiempo de vida de las sustancias.

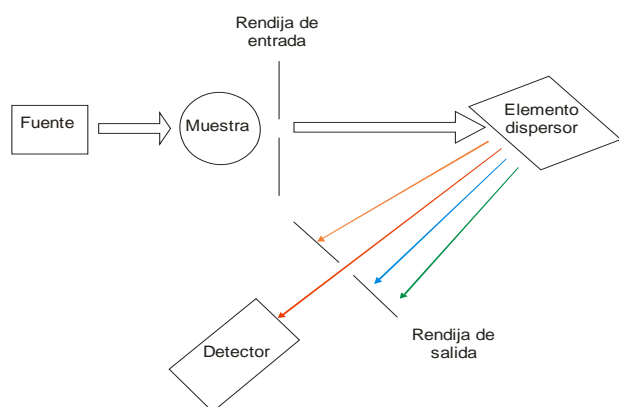


Figura 2. Elementos básicos del montaje espectrométrico.

Para obtener el espectro de excitación de los diferentes solventes se ha utilizado un sistema espectrométrico basado en el espectrómetro *Ocean Optics 650*. Este espectrómetro consta de una fuente de luz que se aplica sobre la muestra dispuesta en una cubeta, una sonda hueca y un detector, ver Figura 2. Este último es de tipo CCD lineal, es decir, mide simultáneamente todas las longitudes de onda sin parte

móvil, para prevenir el desgaste o la rotura de esta última. El rango de medida abarca desde una longitud de onda de 350 a 1000 nm, es decir, contiene los rangos de la mayor parte de la ventana terapéutica antes citada, con lo que resulta suficiente para la realización de los experimentos que tienen como finalidad caracterizar los fluoróforos.

4. Resultados y discusión

Experimentalmente, en primer lugar, se han obtenidos los espectros de excitación del azul de metileno y verde de indocianina disueltos en agua destilada a diferentes concentraciones observando cómo varía la absorción en función de la concentración. Los resultados demuestran una dependencia que puede tener una gran influencia en el diseño del equipamiento clínico. En el espectro de excitación de todas las diluciones de los dos fluoróforos aparecen dos picos en el espectro. El pico que aparece a longitudes de onda menores se corresponde con la absorción de fotones de agregados y el otro a la absorción de fotones por el propio fluoróforo. En la figura 3 se muestran algunos experimentos realizados con el azul de metileno. En ella aparecen claramente los dos picos mencionados.

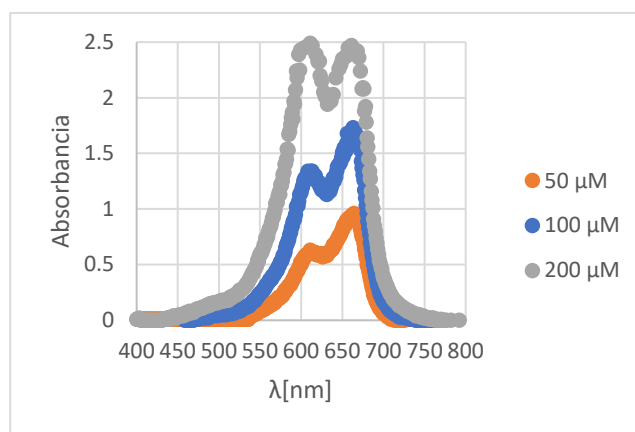


Figura 3. Espectro de excitación del MB en agua destilada.

La formación de agregados se debe a las interacciones (fuerzas hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno) entre el fluoróforo y el agua destilada. Aunque los agregados presentan absorción de fotones, este hecho reduce la eficiencia de fluorescencia, ya que aumentan las fuerzas de interacción. Este hecho provoca, en primer lugar, la transferencia espontánea de electrones de un nivel de excitación elevado a uno inferior (conversión interna), y a continuación un cambio al estado triplete de algunos electrones (cruce intersistémico). Ambas transiciones no radiativas provocan la pérdida de señal de fluorescencia. Un parámetro que trata de caracterizar este efecto es la denominada concentración límite. Ésta se alcanza cuando los dos picos de absorción (dímeros y fluoróforo) toman el mismo valor de absorbancia [8]. Esto ocurre, como se muestra en la figura 3, para el azul de metileno a la concentración de 200 μM , y para el verde de indocianina a entre 40 y 50 μM .

Para solventar la limitación de la formación de agregados se selecciona un disolvente menos polar como es el etanol que genera menos interacciones con los solutos. Para observar experimentalmente la menor formación de agregados se

compara el espectro de excitación de los fluoróforos disueltos en agua destilada y en etanol al 50%. Los resultados muestran cómo el pico de absorción que aparecía a longitudes de ondas menores disminuye en gran medida. En la figura 4 se muestra esta apreciación cuando se disuelve el verde de indocianina en 50% de etanol y agua destilada a la concentración 40 μM . El uso de etanol (un disolvente menos polar) genera la disminución de la formación de agregados y por tanto consigue aumentar el rango de concentraciones a la cual se consigue una excitación eficiente del fluoróforo.

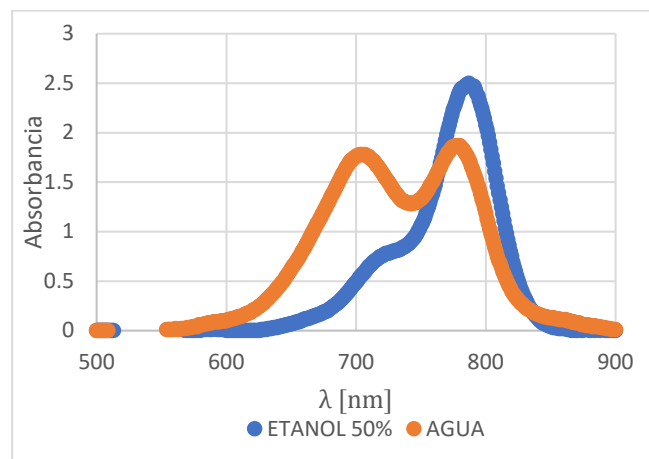


Figura 4. Espectro de excitación del ICG y etanol al 50%.

Además, con el uso de este disolvente la longitud de onda de excitación se desplaza. Cuando se disuelve en etanol al 50% el verde de indocianina se obtiene en el valor 791 nm (figura 4). A diferencia del MB, que al disolverse en etanol al 50% no presenta ningún desplazamiento. En cambio, al disolverse en etanol puro, el azul de metileno desplaza su pico de excitación a una longitud de onda menor de 656 nm. Los valores de la longitud de onda de máxima excitación del azul de metileno y verde de indocianina son de importancia capital en la aplicación diagnóstica de estos fluoróforos, ya que cuando más cerca de estos valores se encuentren los fotones que inciden sobre los fluoróforos, mayor parte serán absorbidos, consiguiendo una mayor excitación de los átomos y moléculas y, consecuentemente, generando mayor intensidad de fluorescencia. El problema es que el valor de este parámetro solo se puede determinar mediante la experimentación, ya que el espectro de excitación varía según la estructura química del disolvente y del fluoróforo y las interacciones que se generan entre ambos.

5. Conclusiones

La caracterización espectral del azul de metileno y verde de indocianina es fundamental para el adecuado diseño de técnicas diagnósticas fluorescentes. La absorbancia de los fluoróforos en agua destilada está limitada por la formación de agregados y por lo tanto la excitación solo es eficiente en un rango de concentraciones. Este rango para el azul de metileno se encuentra entre 5 y 100 μM . En cambio, para el verde de indocianina está entre 6,5 y 40 μM .

El verde de indocianina en agua destilada consigue obtener mayores valores de absorbancia que el azul de metileno a la misma concentración. Esto repercute en que el verde de indocianina debería mostrar mucha más emisión de fluorescencia. La utilización de otros disolventes menos polares, en este

caso el etanol, consigue reducir la formación de agregados. Además, según el disolvente utilizado la longitud de onda a la cual se produce la máxima excitación varía según el disolvente. Todos estos resultados contribuyen a una mejor comprensión del proceso de emisión de fluorescencia en aplicaciones clínicas, así como a determinar los parámetros de concentración o categoría de disolvente necesarios para el diseño de equipamiento diagnóstico de alta eficiencia, particularmente en lo que se refiere al contraste o a la profundidad de penetración de las técnicas de imagen.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos del Plan Nacional de I+D+i “Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión” (MAT2015-69508-P), y Acción Estratégica en Salud “Electroencefalografía intracortical en pacientes con daño cerebral agudo” (PI17/00156), cofinanciados con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] 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).
- [2] Berezin MY et. al. Near infrared dyes as lifetime solvatochromic probes for micropolarity measurements of biological systems. *Biophysical Journal*, vol 93, 2007, pp 2892-2899 (ISSN: 0006-3495).
- [3] 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, 1845-1848 (ISSN: 1539-4794).
- [4] Valeur B. Molecular fluorescence: Principles and Applications. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001 (ISBN: 978-3-527-32846-8).
- [5] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego JL. 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).
- [6] Página web Database of Fluorescent Dyes, Properties and Applications de la Universidad Tecnológica de Austria. <http://www.fluorophores.tugraz.at/substance/292> (Consultada: mayo 2018).
- [7] Página web de ATT Bioquest. <https://www.aatbio.com/products/indocyanine-green-cas-3599-32-4?unit=91> (Consultada: mayo 2018).
- [8] Ekaterina, M. et. al. 2013. Photoacoustic lifetime contrast between methylene blue monomers and self-quenched dimers as a model for dual labeled activatable probes. *Journal of Biomedical Optics*, vol. 18, 2013, 56004 (ISSN: 1560-2281).

Innovative multiphotonic endoscope to address technological challenges in current colonoscopy procedure

L. Bote-Curiel¹, JF. Ortega Morán¹, JB. Pagador¹, FM. Sánchez Margallo¹, B. Glover², J. Teare², F. Polo³, N. Arbide³, C.L. Saratxaga⁴, P. Solleder⁵, D. Alfieri⁶, F. di Noia⁶, B. Roycroft⁷, J. Bain⁸, R. Cicchi⁹, FS. Pavone⁹, A. Picon⁴

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, Spain, {lbote,jfortega,jbpagador,msanchez}@ccmijesususon.com

² Imperial College of Science, Technology and Medicine, London, United Kingdom, ben.glover@nhs.net, j.teare@imperial.ac.uk

³ Hospital Universitario de Basurto, Bilbao, Spain / Fundación Vasca de Investigaciones e Innovación Sanitaria, Barakaldo, Spain, {FRANCISCO.POLOORTIZ,NAGORE.ARBIDEDELRIO}@osakidetza.eus

⁴ Fundación Tecnia Research & Innovation, Derio, Spain, {artza.picon,Cristina.Lopez}@tecnalia.com

⁵ Karl Storz SE & Co., Tuttlingen, Germany, Peter.Solleder@karlstorz.com

⁶ L4T-LIGHT4TECH srl, Florence, Italy, {d.alfieri,f.dinoia}@l4t.it

⁷ University College Cork – Tyndall National Institute, Cork, Ireland, brendan.roycroft@tyndall.ie

⁸ M Squared Lasers Ltd, Glasgow, United Kingdom, James.Bain@m2lasers.com

⁹ European Laboratory for Non Linear Spectroscopy, Sesto-Fiorentino, Italy, {rcicchi,pavone}@lens.unifi.it

Abstract

Colorectal cancer is one of the most common types of cancer in the world. The main method used to detect colorectal cancer is an exploration of the colon through a colonoscopy, but enhancements in endoscopes are essential to improve this procedure. New diagnostic techniques are required to differentiate in situ hyperplastic and neoplastic polyps. With this purpose, a “focus group” with gastroenterologists has been developed to identify medical needs related to the limitations of endoscopic technology and the colonoscopy procedure, and to optimize the design and development of new technologies. The “focus group” was carried out with four gastroenterologists, following a semi-structured interview of 30 minutes. Analysis of comments of the clinicians shows several main topics to perform improvements: (a) equipment related to image quality and colon lighting; (b) problems in polyp detection and classification; (c) provide visual information; and (d) physical characteristics of the endoscope. The European PICCOLO project is addressing these technological needs, in which an innovative multiphotonic endoscope will be developed to enhance the diagnosis of colorectal cancer. This endoscope, based on Optical Coherence Tomography (OCT) and Multi-Photon Tomography (MPT) technologies, will allow performance of image-guided “optical biopsies” for in-vivo real-time diagnosis. It will provide high resolution OCT/MPT images, white light and fluorescence wide field images and a Computer Aided Diagnosis (CAD) software. With this technology, neoplastic and hyperplastic polyps would be better detected and classified in real time, especially flat polyps. This software will support decision-making in diagnosis by providing visual information of polyps’ characteristics.

1. Introduction

Worldwide, colorectal cancer is the third most common cancer in men, behind lung and prostate cancer, and second in women, behind breast cancer. This cancer represents around 10% of all cancers, causing almost 700,000 annual deaths around the world, representing 8.5% of the total deaths associated with cancer, with the highest estimated

mortality rates in Central and Eastern Europe [1]. Specifically, adenocarcinoma represents more than 95% of all these cases [2]. There is scientific evidence showing that early detection leads to a nearly complete cure of patients diagnosed in early stages of the disease, reaching cure rates up to 90% [3]. Moreover, the duration and costs of diagnosis and treatment will be reduced and a lower number of future reoperations will be achieved [4].

To achieve an early detection of the disease, it is highly recommended to get the risk population involved in colorectal cancer screening programmes, where the main method utilized is the colonoscopy. Up to 40% of patients [5] undergoing routine analysis colonoscopy present one or more polyps, which can be, in summary, hyperplastic (with no malignant potential) or neoplastic (with malignant potential). Specifically, 29-42% of these polyps are hyperplastic, whereas the rest are neoplastic [5]. Furthermore, greater than 40% of patients with colorectal polyps present with multiple polyps [6]. Additionally, almost 30% of these polyps are not detected [7]. In the current gold standard procedure (Figure 1), all polyps (both hyperplastic and neoplastic) are resected and sent to the histopathological analysis to get the diagnosis. This standard clinical procedure for diagnosis still depends on biopsy, a tissue sample preparation and an analysis taken by an expert pathologist including extraction, preparation, cutting, and staining with Hematoxylin-Eosine (H&E) to assess the morphological pattern. This procedure implies high diagnosis time and costs, and may unnecessarily expose patients to the risks associated with polypectomy, besides the high psychological impact that can cause on them. Adenomatous polyps have malignant potential, so they must be resected to protect against colorectal cancer. But hyperplastic polyps do not present malignant potential, so they can be left.

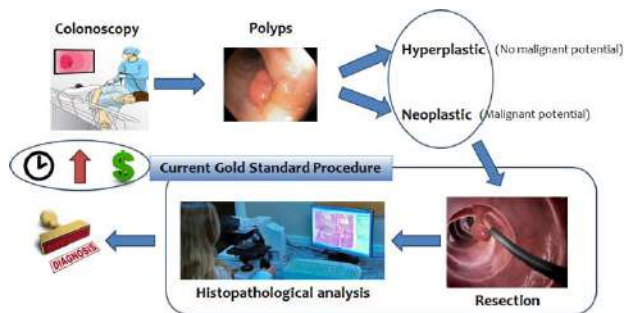


Figure 1. Current gold standard procedure

Therefore, improved diagnostic techniques are required to differentiate hyperplastic and neoplastic polyps, allowing in situ assessment, safe characterization and appropriate resection of lesions during clinical interventions. However, it is important to previously identify the medical needs related to the constraints in the context of endoscopic technology and the colonoscopy procedure currently used to improve the design and development of new technologies. With this purpose, semi-structured interviews with experienced gastroenterologists have been conducted..

2. Methods

This section details the protocol followed for the design of the interview, as well as the questions that compose it.

A semi-structured interview has been used, which is a technique that allows respondents the freedom to express their points of view in their own terms. Interviewer use a paper-based interview guide (a list of questions usually in a particular order) that is needed to be covered during the conversation. Since this kind of interviews contains open-ended questions, it is best to tape-record and later transcript these recordings for analysis, although also interviewers can write notes. The interview have questions from generic to concrete, should last approximate 30 minutes, and is in English and Spanish, depending on the language of the clinicians. It is divided in 4 blocks, each one with several questions. The number of interviews needed has been set by applying the theoretical saturation, that is the phase of qualitative data analysis in which the researcher has continued sampling and analyzing data until no new data appear and all concepts are well-developed. It is necessary to select proper profile of respondents. In our case, the most adequate profiles are gastroenterologists.

The design of the interview is as follows:

Block 1. Presentation (1-2 minutes)

1. Dear [Respondent], I would like to thank your participation in this study. I am [Interviewer], from [Interviewer's institution], a partner belonging to the consortium of the PICCOLO project, a European research project that aims to develop an endoscope based on photonic technologies for improving colorectal cancer diagnosis providing in-vivo image-guided biopsy capabilities. With this study we aim to advance the current state of the art for procedures and technologies used for the diagnosis of colon cancer and to understand the needs for the development of new systems that allow the procedure to be improved. The methodology to be followed will consist of an interview of 30 minutes approximately, comprising three blocks of questions: (1) review of your demographic

data in 5 minutes, (2) 10 minutes with questions about current procedure and technologies for colonoscopy and colorectal cancer diagnosis, and finally, (3) 15 minutes to ask you about challenges you think should be addressed to improve the current procedure and technologies. Your interview will be recorded to be later analysed. Your participation is voluntary and you can withdraw from the interview at any time you wish. However, we would appreciate you completing the entire interview to obtain higher quality data.

Block 2. Demography (up to 5 minutes)

1. Let's start the interview with a brief description of your demographic data, such as name, age, academic training, number of colonoscopies performed, where you are working or have worked, in what position, etc.

Block 3. Current procedure for colonoscopy and colorectal cancer diagnosis (10 minutes)

1. What is the current screening procedure for the diagnosis of colorectal cancer?
2. But more specifically, and more related to your field of work, what is the current colonoscopy procedure?
3. What problems you encounter while performing such procedure? And related to the technology used?

Block 4. Challenges (15 minutes)

1. What improvements would you like to see in the colonoscopy procedure? And related to current technology and equipment (expected innovations)?
2. What is your opinion and personal experience of the use of advanced imaging techniques (including dye-spray, virtual chromoendoscopy, photonics techniques) for the diagnosis of polyps and colorectal cancer?
3. If you could have at your disposal an ideal device for supporting your decision-making in the assessment of polyps or colorectal cancer, what additional information would you like to be provided with? (Detection, classification, visual information, auditory information...)

3. Results

Four gastroenterologists from "Hospital San Pedro de Alcántara" in Cáceres were interviewed. Due to the availability of time of the clinicians, there have been no individual interviews, but a joint "focus group" interview. In this kind of interview, a group of people assemble to participate in a discussion about some topics to provide feedback. Furthermore, "focus group" method has the advantage of having a characteristic group interaction and non-verbal communication that reveals beliefs, attitudes and feelings about the discussed topic [8].

A team of two researchers conducted and moderated the interview. The "focus group" was audiotaped and transcribed verbatim for accuracy.

The more relevant results are the ones shown below:

One of the clinician described the need to improve the image quality to develop a more precise work:

"...regarding the image quality, we have 4K TVs in our homes, and here we are waiting to reach high definition.

I suppose it could be a problem with miniaturization of the chips or whatever, but the reality is that imaging technology is much more advanced in home consumption material. I think that the more definition, the more you can get."

And also indicates some areas for improvement:

"...both the image capture and the illumination of the interior of the colon are the fields in which we can move forward."

Other clinician complains about some types of polyps:

"...flat polyps are the hardest to see..."

indicating that the shape is not important for diagnosis:

"The shape I don't know if contributes because malignant or benign polyps have all the shapes... from the flat polyp, that is almost only a change of color in the mucosa, to a polyp that is like a pedicled polyp that is a small tree with its leaves... the shape really does not matter, you just have to know how to identify..."

But it is important to delimit the edge of the polyp:

"I think that the polyps highlighted from the rest of the mucosa would be important, because there are times that you do not see very well what the edge of the polyp is. So then to delimit better the polyps would help at the time of doing the resection."

Another aspect to improve is the possibility of measuring the size of the polyp:

"The size, because the measurements that are made now are estimated... there are differences between measurements performed by one and other clinician... if you could quantify it..."

For one of the clinicians, the best technology would be:

"The best technology would be one that detects the polyp and tells you this is a polyp and is adenomatous, or this polyp has an area that looks like a tumor, or this polyp is hyperplastic and you do not have to do anything. All those things or the location more precise of polyps in the colon."

And in the same way, another of the clinicians says the following:

"...you are performing an endoscopy and besides what you see, there is the possibility of a system that tells you that here there is a thing... it measures X millimeters and is hyperplastic. And then I can say in the report, at such a distance, there is an injury of X millimeters, and has hyperplastic characteristics."

Also, they highlight the need for all additional information to be displayed on the screen:

"Visual will always be better."

And the automation of the report elaboration:

"That the system itself generates a report including the best of those images that have been seen, automatically."

Regarding the endoscopic devices in the market, a clinician admits:

"...in size I think they are... long enough..."

And another one also thinks that devices are well designed:

"Colonoscopes of 160 cm are used here in Spain, however colonoscopes used in Europe are 130 cm long... They are trying more flexible tips, variable stiffness... They are quite accomplished devices, and you can reach your goal more than 95% of the time..."

However, if in the future it is physically possible to make the tip more flexible, the work would be easier:

"But if you can turn the tip more in some polyps... you could work better."

4. Conclusions and future work

Findings of this study provide new information from gastroenterologists' comments about the main drawbacks in the context of endoscopic technology and the colonoscopy procedure currently used for the diagnostic of colorectal cancer. Qualitative analysis performed reveals the following main themes: (a) Equipment limitations related to image quality and colon lighting; (b) problems in polyp detection and classification, especially flats polyps, and their location and size more precisely; (c) provide visual information; and (d) physical characteristics of the endoscope, such as size or tip stiffness.

Colorectal polyps currently detected with white light colonoscopy can be improved by means of fluorescence [9,10]. This approach offers the possibility of improving diagnostic capability without using exogenous agents, as demonstrated by various studies employing both visible [11] and near-infrared light [12].

The emerging optical imaging technologies (i.e: Confocal fluorescence microscopy, Optical Coherence Tomography, Raman spectroscopy, Hyperspectral spectroscopy, Multi-Photon Tomography and subsequent variations) show great potential for assisting clinicians in the early detection of cancerous diseases [13]. Among these technologies, Optical Coherence Tomography (OCT) and Multi-Photon Tomography (MPT) combination is a promising approach that can offer high sensitivity and specificity for diagnosis [14], representing an unprecedented powerful clinical tool to be used for both early diagnosis and follow-up of colorectal cancer. These images modalities provide microscopical structural and functional information,

In the European PICCOLO project [15] we aim to solve some of the abovementioned drawbacks developing a new technology for improving diagnostic identification of polyps at the time of colonoscopy. In this project, it is intended to provide an innovative minimally invasive endoscope based on OCT and MPT photonics that will allow performance of image-guided optical biopsies for in-vivo diagnosis of hyperplastic and neoplastic polyps that will increase detection rates, especially of flat polyps.

Also, the PICCOLO endoscope will be equipped with advanced image processing methods that will facilitate the detection, analysis and diagnosis of polyps on real time through a Computer Aided Design (CAD) system. This software will provide clinicians "Optical Biopsy" capabilities from OCT/MPT images. Visual aids for polyps delimitation, diagnosis suggestion and histopathological

characteristics will be automatically extracted from the images and presented to the user..

In this way, this innovative multiphotonic endoscope and its CAD system will address the current technological needs in colonoscopy procedure mentioned by gastroenterologists. The high resolution of the MPT/OCT images, and the jointly use of white light and fluorescence, would enhance the image quality and reduce the problems of colon lighting through a better detection of polyps. With the photonic technologies and the CAD software, neoplastic and hyperplastic polyps would be better detected and classified in real time, especially flat polyps, and visual information of diagnostic would be provided to gastroenterologists by the CAD software, as well as the location and size of the polyps, among other relevant metadata. Regarding the physical characteristics of the endoscope, it will be similar to the current ones regarding the size and tip stiffness, so it should be addressed in future improvements.

The results of this study with the focus group serve as a basis for establishing the functional and non-functional requirements necessary for the design of the PICCOLO endoscope. In addition, they are taken into account also for the design of CAD software, both the Graphical User Interface (GUI) that will allow the acquisition of data and the GUI for the control and display of the results to gastroenterologists.

Currently, more interviews are being performed to gastroenterologists from other regions of Spain, and even from other countries in Europe, so as the results could be generalized/extrapolated at a national or European level. As future work, these interviews will be analysed to improve the identification of medical needs. Additionally, questionnaires should be designed based on results from interviews to obtain information from a wider sample of gastroenterologists, not only from Spain, but also from other European countries.

Acknowledgements

PICCOLO project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation Programme under grant agreement No. 732111.

This information reflects only the institution's view, so the Agencies and the Commission are not responsible for any use that may be made of the information it contains.

Authors would like to gratefully acknowledge all gastroenterologists who willingly participated in the study.

References

- [1] International Agency for Research of Cancer, World Health Organization report: "Colorectal Cancer: Estimated incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012."
- [2] Pesson M, Volant A, Uguen A, Trillet K, De La Grange P, Aubry M, ..., Simon B. A gene expression and pre-mRNA splicing signature that marks the adenoma-adenocarcinoma progression in colorectal cancer. *PLoS one*, vol 9, sup 2, 2014, pp e87761.
- [3] Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, Wooldrage K, Hart AR, Northover JM, ..., UK Flexible Sigmoidoscopy Trial Investigators. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*, vol 375, sup 9726, 2010, pp 1624-1633.
- [4] Atia MA, Patel NC, Ratuapli SK, Boroff ES, Crowell MD, Gurudu SR, ..., Ramirez FC. Nonneoplastic polypectomy during screening colonoscopy: the impact on polyp detection rate, adenoma detection rate, and overall cost. *Gastrointestinal endoscopy*, vol 82, sup 2, 2015, pp 370-375.
- [5] Rajasekhar PT, Mason J, Wilson A, Close H, Rutter M, Saunders B, ..., Rees C. OC-024 Detect inspect characterise resect and discard 2: are we ready to dispense with histology?. *Gut* 64, 2015.
- [6] Alecu M, Simion L, Straja N, Brătucu E. Multiple Polyps and Colorectal Cancer. *Chirurgia (Bucur)*, vol 109, 2014, pp 342-346.
- [7] Heresbach D, Barrioz T, Lapalus MG, Coumaros D, Bauret P, Potier P, ..., Sée J. Miss rate for colorectal neoplastic polyps: a prospective multicenter study of back-to-back video colonoscopies. *Endoscopy*, vol 40, sup 04, 2008, pp 284-290.
- [8] Kanaskie ML, Snyder C. Nurses and nursing assistants decision-making regarding use of safe patient handling and mobility technology: A qualitative study. *Applied Nursing Research*, vol 39, 2018, pp 141-147.
- [9] Mayinger B, Neumann F, Kastner C, Haider T, Schwab D. Hexaminolevulinic acid-induced fluorescence colonoscopy versus white light endoscopy for diagnosis of neoplastic lesions in the colon. *Endoscopy*, vol 42, sup 01, 2010, pp 28-33.
- [10] Hirche C, Mohr Z, Kneif S, Doniga S, Murawa D, Strik M, Hünerbein M. Ultrastaging of colon cancer by sentinel node biopsy using fluorescence navigation with indocyanine green. *International journal of colorectal disease*, vol 27, sup 3, 2012, pp 319-324.
- [11] Moriichi K, Fujiya M, Sato R, Watari J, Nomura Y, Nata T, ... , Ishikawa C. Back-to-back comparison of autofluorescence imaging (AFI) versus high resolution white light colonoscopy for adenoma detection. *BMC gastroenterology*, vol 12, sup 1, 2012, pp 75.
- [12] Shao X, Zheng W, Huang Z. In vivo diagnosis of colonic precancer and cancer using near-infrared autofluorescence spectroscopy and biochemical modeling. *Journal of biomedical optics*, vol 16, sup 6, 2011, pp 067005.
- [13] Bergholt MS, Zheng W, Ho KY, Teh M, Yeoh KG, So JBY, ... , Huang Z. Fiberoptic confocal raman spectroscopy for real-time in vivo diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Gastroenterology*, vol 146, sup 1, 2014, pp 27-32.
- [14] Cicchi R, Sturiale A, Nesi G, Kapsokalyvas D, Alemanno G, Tonelli F, Pavone FS. Multiphoton morpho-functional imaging of healthy colon mucosa, adenomatous polyp and adenocarcinoma. *Biomedical optics express*, vol 4, sup 7, 2013, pp 1204-1213.
- [15] PICCOLO project. <http://www.piccolo-project.eu/> (Accessed: July 2018)

Sesión Póster II

Jueves, 22 de noviembre

Estudio de la evolución temporal de la resistencia antimicrobiana de gérmenes en la unidad de cuidados intensivos

S. Martínez-Agüero¹, J. Lérica-García¹, J. Álvarez Rodríguez², I. Mora-Jiménez¹ y C. Soguero-Ruiz¹

Resumen— *La resistencia antimicrobiana es un problema clínico cada vez más grave, especialmente en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) por el estado de salud de los pacientes que se ingresan en las mismas. Este trabajo estudia la evolución temporal de la resistencia a los antimicrobianos en los cultivos realizados durante 13 años a pacientes de la UCI del Hospital Universitario de Fuenlabrada. En concreto, se considera la resistencia antimicrobiana desarrollada por dos gérmenes nosocomiales frecuentes, las pseudomonas y las stenotrophomonas. Se considera una serie temporal con la tasa de resistencia antimicrobiana y sobre ella se aplica un filtro temporal de ventana deslizante para suavizar la serie. La serie filtrada se utiliza para diseñar un modelo de regresión lineal a partir del cual cuantificar el tipo de evolución. Se concluye que la resistencia desarrollada a algunas familias de antibióticos se está incrementando, confirmando la importancia de desarrollar políticas sanitarias para abordar con éxito este problema.*

I. INTRODUCCIÓN

Desde que se descubriese la penicilina en 1928, los antimicrobianos han revolucionado el sistema sanitario permitiendo salvar vidas. Sin embargo, la eficacia de los antimicrobianos en tratamientos de infecciones bacterianas se está reduciendo, debido principalmente a su uso excesivo e inadecuado [1]. Como consecuencia, han aparecido gérmenes (bacterias) multiresistentes a antimicrobianos a los que antes eran sensibles. En un futuro, enfermedades que actualmente son fácilmente tratables requerirán tratamientos mucho más complejos y costosos que los actuales o incluso se podrían convertir de pronto en letales [1].

La resistencia antimicrobiana comporta una pesada carga social y económica. En [2] se estima que es responsable de 25.000 muertes al año sólo en la Unión Europea (UE), y de 700.000 muertes anuales a nivel mundial. Para el año 2050, se ha estimado [3] que la resistencia a los antimicrobianos podría provocar más víctimas mortales que el cáncer, lo que no sólo se traduce en sufrimiento humano, sino también en serios problemas económicos. Sólo en la UE, se calcula que la resistencia a los antimicrobianos supone un gasto de 1.500 millones de euros al año en costes sanitarios y pérdida de productividad [2]. Además, el Banco Mundial ha advertido que, para 2050, las infecciones resistentes a los fármacos podrían ocasionar daños económicos a escala mundial, comparables a la crisis financiera de 2008 [4].

¹ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones y Sistemas Telemáticos y Computación. Universidad Rey Juan Carlos, Fuenlabrada, España. s.martinezag@alumnos.urjc.es, j.lerida@alumnos.urjc.es, inmaculada.mora@urjc.es, cristina.soguero@urjc.es

²Hospital Universitario de Fuenlabrada, Fuenlabrada, Madrid, España. joaquin.alvarez@salud.madrid.org

Según la Organización Mundial de la Salud, la resistencia a los antibióticos ha alcanzado niveles alarmantes [5]. Se precisan mayores esfuerzos para comprender mejor la epidemiología, aparición, prevalencia y carga de las enfermedades infecciosas con el fin de seguir investigando cómo se desarrolla y propaga la resistencia, especialmente en entornos clínicos.

Una de las herramientas para estudiar la resistencia antimicrobiana de los gérmenes es el antibiograma. La respuesta del germen ante la aplicación de distintos antibióticos se interpreta de acuerdo a la lectura de los halos de inhibición establecidos por el *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. El germen se considera sensible a un antibiótico si el antibiótico es capaz de crear un efecto en él; por el contrario, el germen se considera resistente si apenas se ve afectado por la aplicación del antibiótico. Es decir, el antibiograma representa la eficacia de cada antibiótico frente al germen estudiado.

Las infecciones nosocomiales producidas en centros sanitarios son aquellas que se adquieren durante la estancia del paciente y no son la causa del ingreso [8]. Estarían incluidas las infecciones que no se habían manifestado ni estaban en periodo de incubación, haciendo que la prevención sea un tema de vital importancia para evitar el agravamiento de los pacientes. Estudios previos indican que más de un tercio de los pacientes desarrollan una infección durante su estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), y que el 51 % de los pacientes adquirió una infección en la UCI [6]. Es por tanto de vital importancia focalizar la atención en esta unidad.

El objetivo de este trabajo es estudiar la evolución de la resistencia desarrollada por ciertos gérmenes que causan infecciones nosocomiales en la UCI. En concreto, se consideran dos tipos de gérmenes con alta prevalencia: pseudomonas y stenotrophomonas.

La estructura del trabajo es la siguiente. En la Sección II se describen los datos y metodología utilizada, presentando los resultados en la Sección III. La Sección IV muestra las conclusiones y líneas de trabajo futuras.

II. DESCRIPCIÓN DEL CONJUNTO DE DATOS Y METODOLOGÍA

Para el desarrollo de este trabajo se han considerado datos anonimizados de distintas fuentes, proporcionadas todas ellas por el Hospital Universitario de Fuenlabrada (HUF) en Madrid, España. En concreto, se dispone de información demográfica del paciente, así como de los cultivos realizados por el laboratorio de microbiología en la UCI del HUF

durante un periodo de 13 años comprendido entre 2004 y 2016 (ambos inclusive). Durante este período ingresaron en la UCI 5.475 pacientes. Se dispone de 31.861 cultivos procedentes de 3.044 ingresos de 2.634 pacientes. Nótese que no todos los pacientes ingresados tienen cultivos, y que un mismo paciente puede haber ingresado más de una vez en la UCI.

II-A. Integración de Fuentes de Datos

Se dispone de tres fuentes de datos, por lo que fue necesaria su integración en una estructura de datos común para realizar su posterior análisis. A continuación se indican las variables de cada fuente utilizadas en este trabajo:

- Variables relativas al ingreso en UCI: fechas de ingreso y fechas de alta en la UCI.
- Variables relacionadas con los resultados del laboratorio de microbiología. Contienen información sobre los análisis realizados por el laboratorio de microbiología (cultivos), e incluyen: el tipo de análisis (exudado, broncoaspirado...), la fecha en la que se realizó dicho cultivo y el germen encontrado en éste (en caso de detectarse).
- Variable relacionada con los resultados del antibiograma. Para cada cultivo se obtiene la respuesta de cada germen detectado ante el conjunto de antibióticos cuyo testeo se solicita por el personal sanitario. Nótese que, en cada cultivo, el conjunto de antibióticos solicitado puede ser diferente.

Tras crear una única estructura de datos se ha realizado una selección de cultivos con la finalidad de conservar sólo aquéllos que corresponden a infecciones nosocomiales, es decir, a infecciones adquiridas durante la estancia del paciente en la UCI. Para ello se han seleccionado los cultivos realizados entre el ingreso del paciente en la UCI y las 48 horas posteriores al alta del paciente en la UCI. La consideración de un intervalo temporal adicional de 48 horas tras el alta del paciente permite considerar posibles periodos de incubación.

II-B. Análisis Exploratorio

En esta sección se presenta un análisis exploratorio de los antibióticos y gérmenes considerados en este trabajo.

En primer lugar, se analiza la información del antibiograma correspondiente a seis familias de antibióticos, a saber, penicilinas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, carbapenems, penicilinas de espectro ampliado y cefalosporinas de cuarta generación. Se han seleccionado estas familias de antibióticos por ser las más utilizadas contra los gérmenes estudiados en el HUF. En la Fig. 1 se muestra el número de cultivos positivos en los que se ha testado cada familia de antibióticos.

A continuación, el análisis se centra en la evolución temporal de dos gérmenes, *Pseudomonas* y *Stenotrophomonas*. La Fig. 2 muestra la evolución mensual del número de cultivos en los que ha aparecido alguno de los gérmenes considerados. Cabe destacar el mayor número de *Pseudomonas* en agosto de 2008.

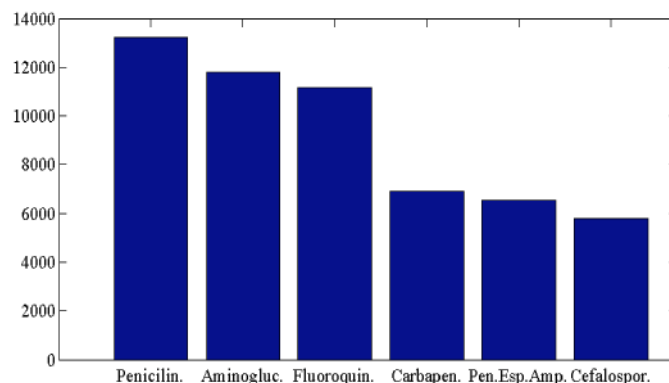


Fig. 1: Número de cultivos positivos (en miles) en los que aparecen seis familias de antibióticos testados en el antibiograma en el período considerado.

II-C. Metodología

Para analizar la evolución temporal de la resistencia antibiótica de gérmenes en la UCI se ha considerado un filtro de suma deslizante con ventana de longitud 12 meses y desplazamiento mensual. El resultado del filtrado se muestra en el último mes de cada ventana (filtro causal). En la Fig. 3 se muestra un ejemplo sintético de aplicación de este filtro sobre el número de cultivos mensuales (Fig. 3(a)). En la Fig. 3(b) se indican los cinco intervalos temporales considerados (denominados ventanas), y en la Fig. 3(c) el resultado del filtrado en cada ventana.

Sobre el resultado del filtro se aplica una regresión lineal por mínimos cuadrados para determinar la tendencia [9] de la serie. Para evaluar la bondad del ajuste se utiliza el coeficiente R^2 .

III. RESULTADOS

En esta sección se analizan los resultados de estudiar la evolución temporal de la resistencia antimicrobiana desarrollada por los dos gérmenes considerados a distintas familias de fármacos. En primer lugar, la Fig. 4 muestra la evolución temporal del número de cultivos tras aplicar el filtro de la Sección II-C para cada uno de los gérmenes considerados en este trabajo. Por otra parte la Fig. 5 y la Fig. 6 muestra la evolución del porcentaje de cultivos en los que se han detectado *Pseudomonas* y *Stenotrophomonas* resistentes, respectivamente. El porcentaje (tasa) de cultivos se ha obtenido como el cociente entre el número de cultivos resistentes y el total de cultivos (de cada germen) en cada ventana.

La Fig 5 ilustra gráficamente cómo la resistencia desarrollada por las *Pseudomonas* a algunas familias de antibióticos (penicilinas de espectro ampliado, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, carbapenems y cefalosporinas de 4ª generación) ha ido creciendo con el tiempo. Un comportamiento similar se observa para las *Stenotrophomonas*, salvo para las familias de fluoroquinolonas y carbapenems, para las que la pendiente de la recta de regresión es inferior a la de las *Pseudomonas* (véase Fig 6). Se observa también que la resistencia de ambos

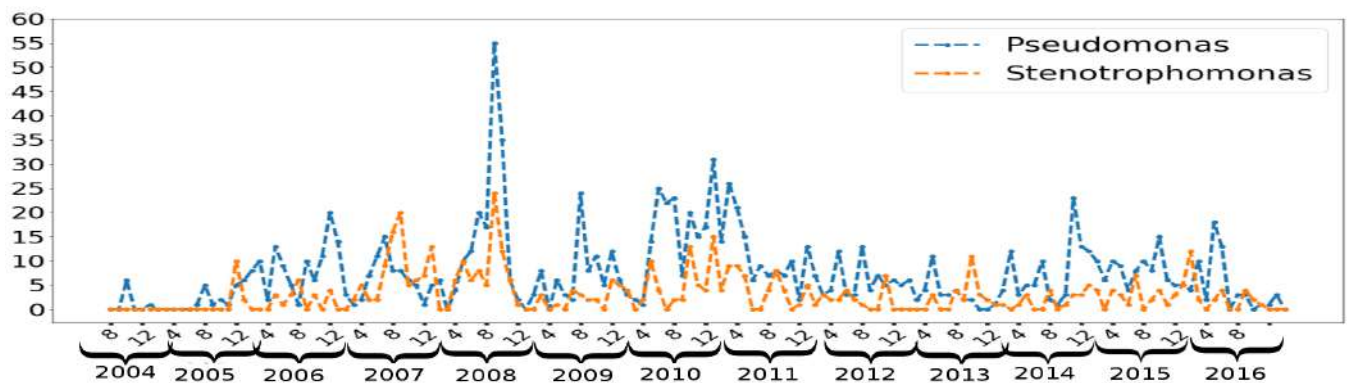


Fig. 2: Evolución temporal (número de mes, año) del número de cultivos con pseudomonas y stentrophomonas.

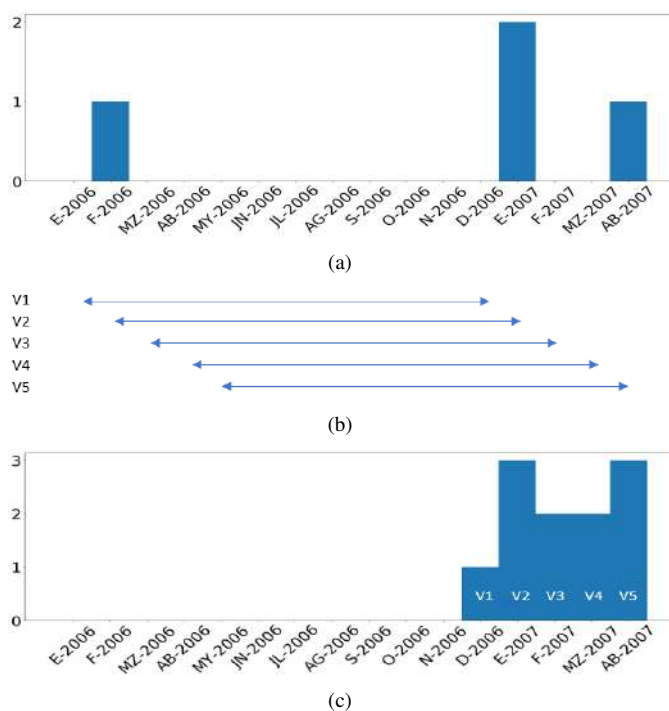


Fig. 3: Ejemplo de aplicación del filtro causal de suma con ventana deslizante de doce meses y deslizamiento de un mes: (a) datos a filtrar; (b) ventanas consideradas; (c) resultado de aplicar el filtro.

gérmenes a la familia de antibióticos de la penicilina apenas cambia durante el período considerado.

Para analizar de forma cuantitativa la evolución de la resistencia de pseudomonas y stentrophomonas, la Tabla I muestra la pendiente de la recta de regresión de las series de datos filtradas y convertidas en tasa (obtenidas a través de un ajuste con mínimos cuadrados), así como la bondad del ajuste. Se puede observar que ambos gérmenes han desarrollado resistencia para prácticamente todas las familias de antibióticos, siendo los más afectados los antibióticos de la familia de las penicilinas de espectro ampliado, aminoglucósidos y cefalosporinas de 4ª generación. Por tanto, se puede concluir que hay una tendencia creciente de la

Familia de antibióticos	Pseudom. Fig. 5	Stenot. Fig. 6
Pen. espectro ampliado	2.7 (0.54)	5.8 (0.81)
Aminoglucósidos	4.1 (0.73)	5.4 (0.58)
Fluoroquinolonas	4.2 (0.73)	0.7 (0.03)
Penicilinas	0.3 (0.04)	2.4 (0.30)
Carbapenems	5.3 (0.73)	2.9 (0.25)
Cefalosporina 4ª G.	3.4 (0.53)	6.3 (0.77)

TABLA I: Pendiente de la recta de regresión (multiplicada por 1000) sobre la tasa de resistencia antimicrobiana a distintas familias de antibióticos. Entre paréntesis, coeficiente R^2 .

resistencia antimicrobiana desarrollada por los gérmenes estudiados en este trabajo.

IV. CONCLUSIONES

En este estudio se ha comprobado cómo la tasa de cultivos en los que se detecta resistencia a antimicrobianos tiende a aumentar para algunas familias de antibióticos en el periodo de tiempo considerado. Cabe destacar el caso de las pseudomonas que se han ido haciendo cada vez más resistentes a todos los grupos de antibióticos. En el caso de las stentrophomonas, las fluorquinolonas siguen siendo la mejor opción terapéutica. Se puede concluir, por tanto, que el desarrollo de resistencia por parte de los gérmenes es real y podría convertirse en una de las mayores amenazas para el sistema sanitario, sobre todo en entornos clínicos de mayor criticidad, como es el caso de la UCI.

Como futuras líneas de mejora, se puede considerar el análisis de otros gérmenes nosocomiales frecuentes. También se podrían utilizar otros métodos más avanzados de aprendizaje automático para caracterizar la evolución.

V. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos nacionales TEC2016-75361-R y DTS17/00158, así como por la red de excelencia TIN2017-90567-REDT.

REFERENCIAS

- [1] C. A. Michael, et al., (2014). "The Antimicrobial Resistance Crisis: Causes, Consequences, and Management".

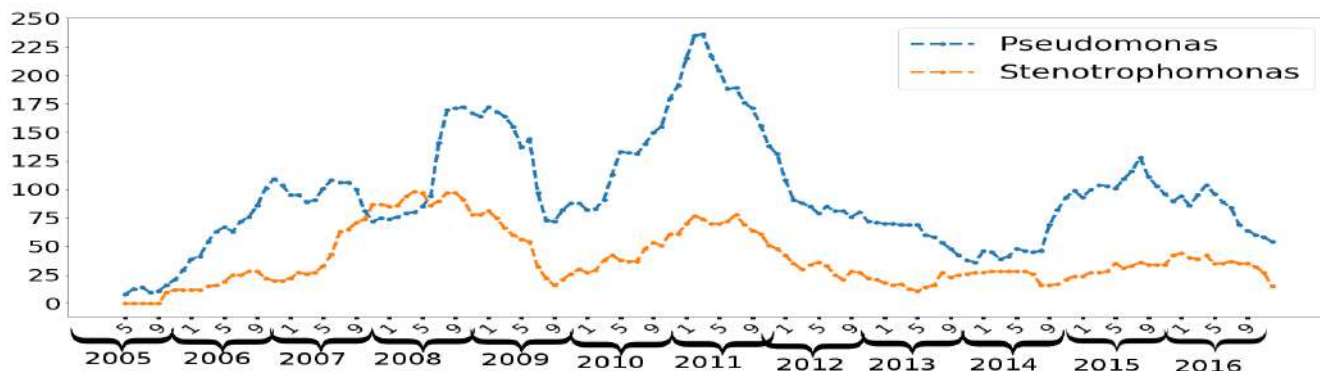


Fig. 4: Evolución temporal (número de mes, año) del número de cultivos con pseudomonas y stenotrophomonas tras aplicar un filtro suma de ventana deslizante.

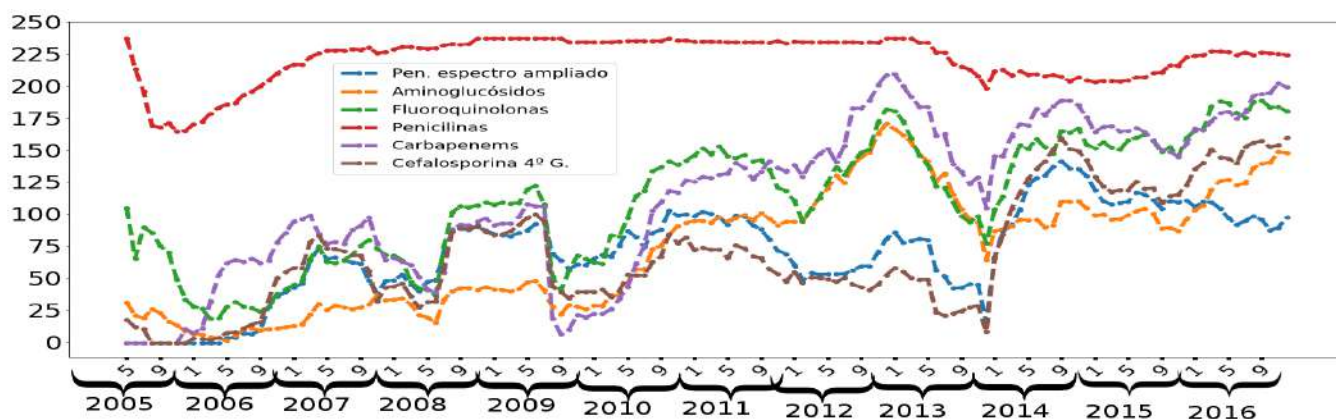


Fig. 5: Evolución temporal (número de mes, año) de la tasa de resistencia antimicrobiana desarrollada por las pseudomonas en cada ventana deslizante y para cada familia de antibióticos.

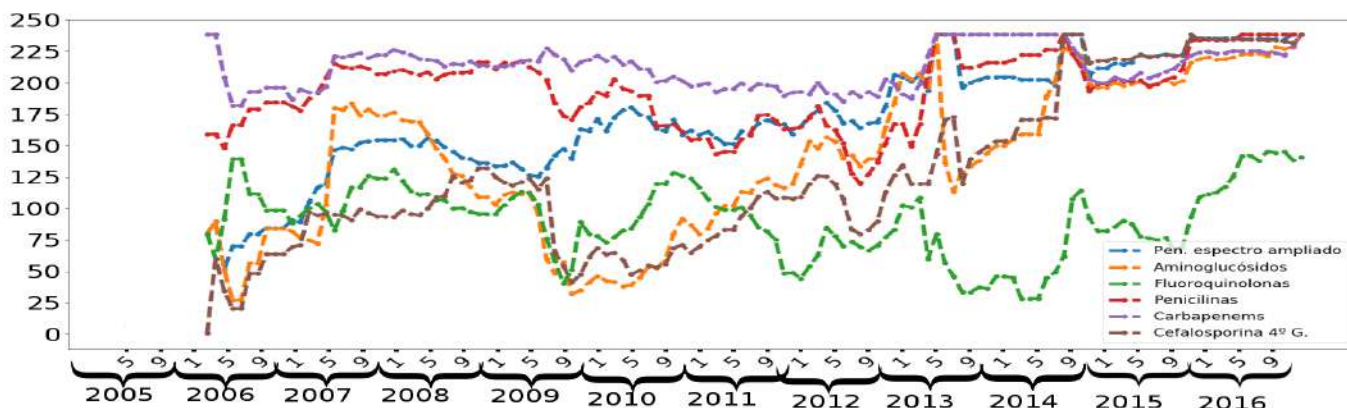


Fig. 6: Evolución temporal (número de mes, año) de la tasa de resistencia antimicrobiana desarrollada por las stenotrophomonas en cada ventana deslizante y para cada familia de antibióticos.

- [2] World Health Organization (2015). "Global Action Plan on Antimicrobial Resistance".
- [3] ECDC/EMA (2009). "The bacterial challenge: time to react".
- [4] J. O'Neill (2016). "Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations".
- [5] World Health Organization (2016). "Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014".
- [6] G. Zilahi, et al., (2016). "What's new in multidrug-resistant pathogens in the ICU?".
- [7] P. Revuelta-Zamorano, et al., (2016). "Prediction of Healthcare Associated Infections in an Intensive Care Unit Using Machine Learning and Big Data Tools".
- [8] H. AhmedKhan, et al., (2017). "Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance".
- [9] J. Neter, et al., (1988). "Applied Linear Regression Models".
- [10] C. A. Gutiérrez Martínez, et al., (2007). "Stenotrophomonas maltophilia, una bacteria multiresistente".

Análisis de biomarcadores qEEG para la detección de convulsiones en neuropatologías de tipo epiléptico

E. Gómez-Gómez, S. Noriega-Casuso, 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 (Cantabria), España, fanjulf@unican.es, arcedj@unican.es

Resumen

El estudio del funcionamiento y patologías del sistema nervioso central constituye un área del máximo interés a nivel mundial. Este hecho está en gran medida relacionado con el aumento de la esperanza de vida y, con ello, el incremento en la incidencia de las patologías neurodegenerativas. El diagnóstico precoz de estas patologías constituye un problema de gran entidad. Son necesarios biomarcadores con alta especificidad y sensibilidad para conseguir avanzar en el diagnóstico precoz, basados en análisis de líquido cerebroespinal, sangre, genéticos, o no invasivos como la Resonancia Magnética, la Tomografía por Emisión de Positrones o la Electroencefalografía (EEG).

La Electroencefalografía Cuantitativa (qEEG) es una herramienta diagnóstica novedosa en la práctica clínica con gran potencial en diferentes patologías. Su carácter no invasivo, sin radiación emitida, así como su alta resolución temporal, la convierten en una aproximación con grandes ventajas. Los estudios que existen al respecto la sitúan como una prometedora técnica para el diagnóstico precoz de numerosas patologías, como la epilepsia, la depresión, el Alzheimer o las crisis de pacientes en coma. Sin embargo, los biomarcadores propuestos presentan en ocasiones resultados parciales, y son necesarios estudios adicionales. En este trabajo se presentan los resultados de la aplicación de la qEEG a la detección de estadios epilépticos en pacientes, con la finalidad de tratar de predecir el inicio de las convulsiones. Las características temporo-frecuenciales de las señales son fundamentales para este objetivo. Los resultados demuestran que existen diferencias en ciertos parámetros, que podrían ser empleados como biomarcadores de las convulsiones.

1. Introducción

El diagnóstico de patologías neurodegenerativas en estadios tempranos constituye un aspecto no resuelto en las aproximaciones clínicas actuales. Gran parte de los procedimientos diagnósticos están basados en cuestionarios al paciente y pruebas de cognición de diferente complejidad. Estas aproximaciones son, por su propia naturaleza, imprecisas cuando los efectos limitativos de las patologías aún no son relevantes en el comportamiento del paciente. La eficacia del tratamiento, cuando existe, así como de los métodos paliativos que ralentizan o detienen los avances de la patología es directamente proporcional a la precocidad del diagnóstico. Entre los tratamientos disponibles se encuentran aproximaciones farmacológicas o no invasivas, que emplean radiación magnética [1] u óptica [2]. En este contexto, se precisan aproximaciones diagnósticas capaces de reconocer la presencia de la patología cuando el paciente es aún asintomático. En estas circunstancias, existen diversas aproximaciones invasivas para diferentes

patologías, basadas en análisis de líquido cerebroespinal, análisis de sangre o análisis genéticos. Además, se intenta también emplear técnicas de imagen no invasivas, como la Resonancia Magnética convencional o funcional, o la Tomografía por Emisión de Positrones (PET). Otras aproximaciones al diagnóstico incluyen la Electroencefalografía (EEG) o la Magnetoencefalografía (MEG).

La EEG posee las ventajas de su carácter no invasivo, sin radiación emitida, y su elevada resolución temporal. Éste último aspecto es importante, teniendo en cuenta la dinámica del comportamiento neuronal y sus potenciales de acción [3,4]. Sin embargo, las aproximaciones clínicas convencionales proporcionan información que es difícil de interpretar, especialmente en estadios precoces de patologías. Los últimos avances en el campo de investigación se dirigen hacia la electroencefalografía cuantitativa (qEEG). Esta variante consiste en el análisis numérico del EEG con el propósito de relacionarlo de manera más clara con la actividad cerebral. De esta forma es posible obtener biomarcadores más precisos, que puedan, potencialmente, proporcionar información sobre la existencia y el progreso de la patología en estadios iniciales. La aplicación de la qEEG en el campo de la medicina es un proceso en desarrollo y de gran importancia para la detección precoz de diversas neuropatologías. En este trabajo se aplica la qEEG a señales de pacientes afectados con epilepsia. La necesidad de poder controlar los ataques epilépticos para evitar consecuencias mayores durante su desarrollo y la posibilidad de evitar su aparición requieren de la definición de biomarcadores apropiados. Las señales de EEG convencional no proporcionan una información diagnóstica definida, o para hacerlo requieren de la intervención de un profesional médico, lo que dilata el proceso, haciendo que sea posterior al propio ataque. En esencia, son necesarias aproximaciones automatizadas o semi-automatizadas para abordar este problema con garantías. El análisis qEEG podría ayudar a solventar este problema. Para analizar las señales EEG computacionalmente es necesario un entorno de programación adecuado que permita de manera lo más sencilla posible y eficiente extraer conclusiones sobre los datos medidos. En este trabajo se analizan las características temporo-frecuenciales de las señales de EEG procedentes de pacientes con epilepsia, y que reflejan ataques. Se trata de distinguir, de manera automática, qué biomarcadores pueden ser de interés para la predicción de

ataques o convulsiones. Se utilizan datos de pacientes pediátricos disponibles en la base de datos CHB-MIT.

El trabajo se organiza como sigue. La sección segunda contiene la fundamentación del análisis de señal EEG y las características relevantes para qEEG. La sección tercera incluye la aplicación de aproximaciones temporofrecuenciales al análisis de las señales de pacientes, y la propuesta de biomarcadores, así como la discusión de estos. La sección cuarta contiene las conclusiones del trabajo.

2. Análisis qEEG

El análisis visual de las señales EEG en el dominio temporal es una ciencia empírica y requiere gran conocimiento clínico y neurológico. La monitorización a lo largo del tiempo y la interpretación visual es hasta cierto punto subjetiva. De ahí que aproximaciones como la qEEG traten de automatizar el proceso y apoyarse en análisis estáticos.

La señal EEG puede ser representada de diversos modos en el dominio del tiempo y en el de la frecuencia. El análisis de Fourier es el proceso de descomposición de la señal en sus componentes frecuenciales [5]. La transformada rápida de Fourier (FFT) es utilizada para calcular la transformada discreta de Fourier. El algoritmo FFT utiliza algunas propiedades de la transformada discreta de Fourier para realizar cálculos rápidos en la transformación. FFT reduce el orden de cálculo de N^2 a $N \log(N)$. Las transformaciones del dominio tiempo/frecuencia son muy útiles para el análisis de las señales EEG. Las transformaciones anteriormente descritas forman partes de numerosos métodos de análisis EEG.

Las señales EEG a menudo están divididas en segmentos de tiempo finitos. La segmentación o truncamiento en el dominio del tiempo es equivalente en el dominio del tiempo a multiplicar por una señal rectangular de duración específica. La multiplicación en el tiempo es equivalente a la convolución en la frecuencia, la transformada de Fourier de una señal después del enventanado es más compleja, reduciéndose o extendiéndose su distribución frecuencial. Las cuatro funciones de enventanado más usadas son: rectangular, Bartlett, Hamming y Hanning:

$$W_R[n] = \begin{cases} 1, & |n| < N \\ 0, & \text{resto} \end{cases} \quad (6)$$

$$W_B[n] = \begin{cases} \frac{N-|n|}{N}, & |n| < N \\ 0, & \text{resto} \end{cases} \quad (7)$$

$$W_H[n] = \begin{cases} 0.54 - 0.46 \cos\left(\frac{2\pi|n|}{N-1}\right), & |n| < N \\ 0, & \text{resto} \end{cases} \quad (8)$$

$$W_H[n] = \begin{cases} \frac{1}{2} \left(1 - \cos\left(\frac{2\pi|n|}{N-1}\right)\right), & |n| < N \\ 0, & \text{resto} \end{cases} \quad (9)$$

La selección del tipo más apropiado depende de la aplicación, y requiere habitualmente del método prueba-

error [6]. Estas funciones reducen las ondulaciones y tienden a reducir los cambios abruptos o la resolución de la transformada de Fourier.

Las características espectrales de una señal determinista pueden ser fácilmente determinadas utilizando las ecuaciones estándar. Sin embargo, las señales EEG son complejas y se asume que han sido generadas mediante un proceso estocástico, por ello no siempre es posible la aplicación de la transformada de Fourier. La densidad espectral de potencia (PSD) es una señal aleatoria $x(n)$ definida como la transformada de Fourier de la función de autocorrelación $r_{xx}(m)$:

$$PSD\{x(t)\} = \sum_{m=-(N-1)}^{N-1} r_{xx}(m) \exp(-j\omega m) \quad (10)$$

$$r_{xx}(m) = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-|m|-1} x(n)x(n+m) \quad (11)$$

Se puede observar que la PSD obtenida es equivalente a obtenerla usando la DFT:

$$PSD\{x(t)\} = S(\omega) = \frac{1}{N} |X(e^{j\omega})|^2 \quad (12)$$

Además de estas aproximaciones, el adecuado tratamiento de la señal de EEG requiere de herramientas de visualización, extracción de muestras de interés, promediado de datos, comparación de conjuntos de datos, herramientas de preprocesamiento como el remuestreo o el filtrado, descomposición frecuencial, descomposición mediante el análisis independiente de componentes (ICA) o análisis estadístico. En este trabajo se emplea un entorno de trabajo en lenguaje Python, basado en MNE [7].

3. Aplicación a datos de pacientes y discusión

Con los conceptos anteriormente expuestos se analizan un conjunto de datos de pacientes pediátricos del Children's Hospital Boston, disponibles en la base de datos CHB-MIT de Physionet [8]. Los datos contienen 916 horas de grabación de EEG sobre el cuero cabelludo en 23 pacientes donde se registraron 173 convulsiones epilépticas, con el sistema habitual 10-20. Para el análisis de los datos para detectar el inicio de una convulsión sin que ésta se haya manifestado se han considerado y analizado las siguientes aproximaciones a grandes rasgos. En primer lugar, la mera observación y análisis proporciona el hecho de que el comportamiento de cada paciente es diferente. Con objeto de acotar el problema, se analiza la variación de la señal en intervalos temporales cortos de 2 a 6 s. El análisis frecuencial utiliza la aplicación de 8 filtros paso banda dentro del rango de frecuencias de interés de 0.5 a 25 Hz, en diferentes bandas en paralelo. Además, se lleva a cabo un análisis de cada canal de manera independiente.

Lo primero que se observa es, como era previsible, la dificultad de obtener resultados observando directamente el electroencefalograma de manera visual. En muchos casos debido a las interferencias sólo se observan líneas caóticas que varían sin aparentemente mucho sentido. Cuando se observan intervalos de tiempo cortos se puede llegar a predecir el inicio de la convulsión debido a un incremento del potencial instantes antes de su aparición como se observa en el ejemplo de la Figura 1.

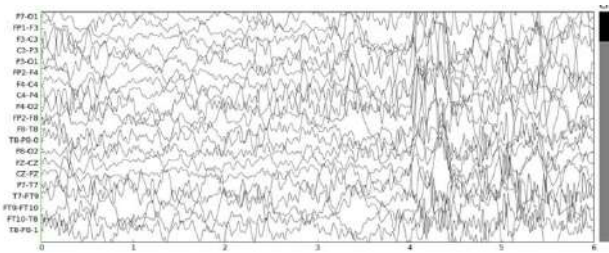


Figura 1. Visualización temporal de las señales EEG, donde se aprecia la variación de potencial correspondiente a los momentos previos a un evento, sucedido inmediatamente después.

Sin embargo, no siempre se puede visualizar claramente el inicio de la convulsión. En otros casos la variación de la tensión con el tiempo no muestra ese incremento de potencial o el incremento se puede deber a otras causas como interferencias dando lugar a falsos positivos. Por ello el estudio de la señal en el dominio de la frecuencia puede aportar más información.

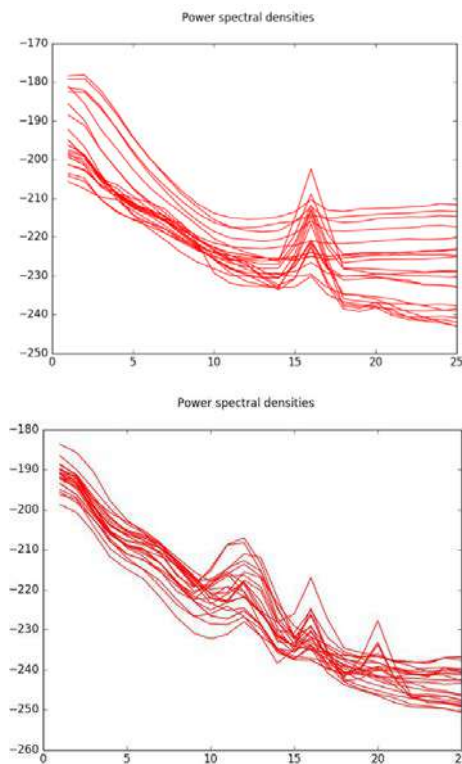


Figura 2. Densidad espectral de potencia durante intervalos no convulsivos (superior) y convulsivos (inferior) en distintos canales con un intervalo de 5 segundos.

El análisis del espectro de las señales es de gran utilidad para suponer cuál es el comportamiento cerebral. Calculando la densidad espectral de potencia de las diferentes señales medidas podemos observar las diferencias en el espectro entre los intervalos convulsivos y no convulsivos. El incremento de la densidad espectral de potencia en la banda de frecuencias entre 15 y 18 Hz es típico, ya que es a estas frecuencias a las que ocurre la mayor parte de la actividad cerebral. Sin embargo, el incremento de potencia a otras frecuencias, como entre 10 y 15 Hz y/o entre 18 y 20 Hz, es una indicación de que estamos ante un ataque epiléptico. La Figura 2 muestra en la gráfica superior el espectro durante un intervalo no

convulsivo y en la inferior el espectro durante una convulsión. El aumento de la potencia en otras frecuencias también puede deberse a interferencias o a otros procesos fisiológicos, por lo que no siempre se puede concluir que el aumento de potencia en otras frecuencias es una señal de inicio de convulsión.

Existen excepciones, hay pacientes en los que el incremento de la potencia a ciertas frecuencias no es visible durante la convulsión, sino que el espectro sigue una distribución más o menos continua sin picos abruptos, como se puede comprobar en la Figura 3.

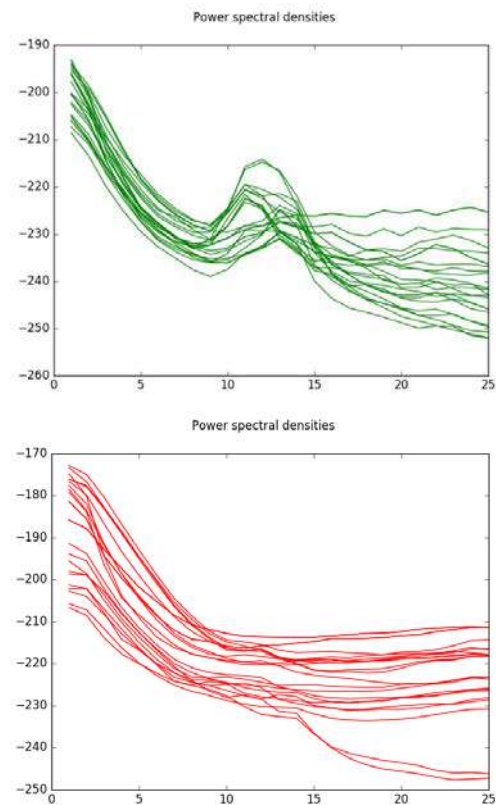


Figura 3. Densidad espectral de potencia en casos excepcionales, arriba durante el estado de normalidad, y abajo durante una convulsión.

Con objeto de proponer biomarcadores para llevar a cabo la predicción de los ataques, se calcula la densidad de potencia en cada canal, tanto en los eventos sin convulsiones, como en aquellos con convulsiones. A modo de ejemplo, se muestran en la Tabla 1 los resultados para el paciente 3, mujer, 14 años.

Por último, cuando la densidad espectral de potencia no permite diferenciar entre un estado convulsivo y no convulsivo se puede analizar el comportamiento de cada canal de manera independiente. El canal 11 por ejemplo muestra un incremento de potencia alrededor de los 16 Hz en el caso de convulsión como se observa en la Figura 4.

4. Conclusiones

El análisis automatizado de las señales EEG, según la aproximación qEEG, permite incrementar las posibilidades del diagnóstico, especialmente de manera precoz. En este trabajo se han analizado temporo-frecuencialmente datos de pacientes con epilepsia, para tratar de predecir los

ataques. El análisis de intervalos temporales reducidos es clave para observar variaciones en el comportamiento neuronal. Cada canal analizado de manera independiente, además de discernir entre estado convulsivo o no convulsivo, presta información espacial sobre las anomalías registradas en EEG. El incremento de densidad espectral de potencia en ciertos intervalos frecuenciales podría permitir la discriminación entre intervalos convulsivos y no convulsivos.

Canal	NConv.	Conv.	Diff
1	5,9333	16,8144	10,8811
2	6,1095	15,6518	9,5423
3	3,3025	18,726	15,4235
4	2,9838	9,0444	6,0606
5	7,9862	15,5244	7,5382
6	5,8549	10,6136	4,7587
7	1,8594	11,8944	10,035
8	0,7688	8,0558	7,287
9	8,4219	15,3775	6,9556
10	5,1893	9,1589	3,9696
11	4,0651	12,1146	8,0495
12	4,008	10,1029	6,0949
13	6,9601	18,5293	11,5692
14	6,0668	15,8621	9,7953
15	4,7276	18,016	13,2884
16	3,3641	8,5775	5,2134
17	4,7713	3,4447	-1,3266
18	4,2509	3,7084	-0,5425
19	3,3023	18,726	15,4237
20	2,3401	15,3654	13,0253
21	6,2092	13,4587	7,2495
22	3,4236	15,8854	12,4618
23	4,7276	18,016	13,2884
Media	4,6359	13,15946	8,52356

Tabla 1. Resultados de densidad espectral de potencia por canal (Nconv: eventos sin convulsiones; Conv: eventos con convulsiones; Diff: diferencia entre ambos).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos del Plan Nacional de I+D+i “Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión” (Mat2015-69508-P) y Acción Estratégica en Salud “Electroencefalografía intracortical en pacientes con daño cerebral agudo” (PI17/00156), cofinanciados con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

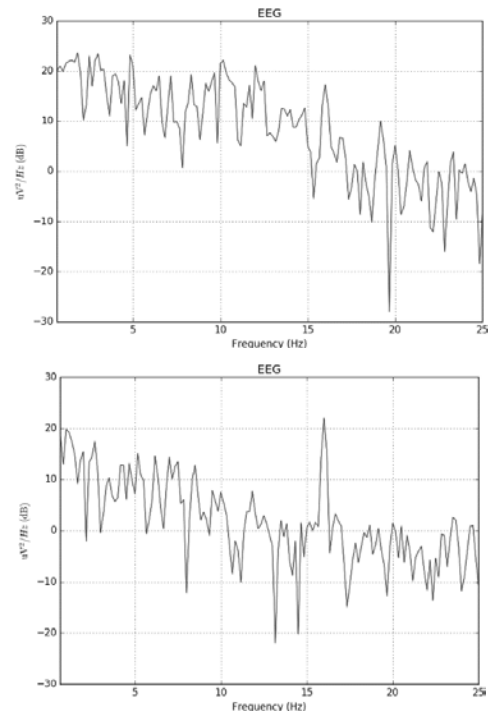


Figura 4. Densidad espectral de potencia en el Canal 11, arriba durante un estado normal, abajo al inicio de un ataque epiléptico.

Referencias

[1] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Ortega-Quijano N, Arce-Diego JL. FDTD-based Transcranial Magnetic Stimulation model applied to specific neurodegenerative disorders. *Comput. Meth. Prog. Bio.*, vol 118, sup 1, 2015, pp 34-43 (ISSN: 0169-2607).

[2] Ortega-Quijano N, Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Numerical Modeling of Optical Radiation Propagation in a Realistic Model of Adult Human Head. *Proc. IFMBE*, vol 41, 2013, pp 1697-1682 (ISSN: 1680-0737).

[3] Izhikevich EM. Which Model to Use for Cortical Spiking Neurons?. *IEEE Trans. Neural Netw.*, vol 15, sup 5, 2004, pp 1063-1070 (ISSN: 2162-2388).

[4] Zverev M, Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Study of Optical Neural Stimulation effects on synaptic impairments associated to neurodegenerative diseases by a predictive model. *37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2015, pp 6900-6903 (ISBN: 978-1-4244-9271-8).

[5] Oppenheim AV, Schafer RW, John R. *Discrete-Time Signal Processing*. Prentice-Hall, 1999 (ISBN: 978-0132067096).

[6] Lessard C. *Signal Processing of Random Physiological Signals*. Morgan & Claypool, 2006 (ISBN: 978-1598290387).

[7] Gramfort A, Luessi M, Larson E, Engemann E, Strohmeier E, Brodbeck C, Parkkonen L, Hämäläinen M. MNE software for processing MEG and EEG data. *NeuroImage*, vol 86, 2014, pp 446-460 (ISSN: 1053-8119).

[8] PhysioNet Research Resource for Complex Physiologic Signals, National Institute of General Medical Sciences (NIGMS) and the National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering (NIBIB).

A new virtual reality based environment for surgical training

P. Sánchez-González^{1,2}, I. Oropesa¹, M. Davis¹, M. Rodríguez¹, D. Camba¹, E.J. Gómez^{1,2}

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

²Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Zaragoza, España

Abstract

This research proposes a new virtual reality based environment for surgical training. Minimally Invasive Surgery Simulator Scenario Editor (MIS-SIM) is an innovative environment for surgical content creators and professors empowered to create their own training scenarios. MIS-SIM provides personalised and adaptive learning for surgical professionals in patient-free environments thanks to the new form of content creation. The main goal is to reduce the learning curves and to train more confident professionals. After the implementation process a pilot programme will be carried out in two European sites, The Netherlands (Leiden University Medical Center) and Hungary (Semmelweis University).

1. Introduction

Education of surgical techniques is a long and challenging process that takes place during graduate and postgraduate years. Traditional training based on tutor-apprenticeship models are now considered, as a general approach, to be subjective, time/resource-consuming and risky for patients, and new structured programmes are being proposed to provide training and objective assessment in patient-free settings.

Several studies have already established the usefulness of VR simulation as a means to train MIS technical skills [1][2][3], and our hypotheses is that flexibility in content definition and adoption of different pedagogical strategies will contribute to further boost this. In this study we present the Minimally Invasive Surgery Simulator (MIS-SIM) scenario editor, designed and developed to fill an existing gap in the market: an editor that can be used to create, edit and train with personalized virtual tasks and scenarios designed for surgical training.

2. MIS-SIM concept

MIS-SIM is conceived as an environment where users can create, edit and run virtual reality based tasks designed for surgical training. The environment features an editor allowing users to design personalized learning tasks, defining its learning objectives and task goals. A user will later be able to train his/her psychomotor skills through a simulation of the given tasks.

The creation of the tasks is made through the placement of different predefined objects (prefabs) in the scene, applying affine transformations (translation, rotation and scaling) to the given objects in a 3D space. Prefabs such as cubes, planes, spheres, cylinders, capsules, trigger zones, drop zones, rings with and without gravity, etc. will help users to create and edit their own tasks.

In order to evaluate performance and the accomplishment of the tasks' learning outcomes, MIS-SIM is able to measure different metrics defined by the user. These are recorded during the runtime of the simulation, and can be one of two kinds. On one hand, global metrics refer to metrics that affect the entire scenario during the runtime of a task. Some examples of global metrics include "overall elapsed time" and "laparoscopic instrument travel distances". Local metrics, on the other hand, are inherent to each task object prefab, meaning that they will measure things regarding the individual prefab they are attached to. Some examples of individual metrics are a "drop counter" (how many times the object has been dropped), a "floor/wall touch counter" (how many times an object touches a wall), etc. The objects that include metrics measures are called evaluating objects within MIS-SIM.

Once a task is created, it is uploaded to a Cloud Repository, where permissions of access, edition or running are established.

3. MIS-SIM environment design

Development of the environment has been undertaken using the agile process methodology Scrum [4], involving sprint planning meetings, sprints for developing and sprint reviews.

3.1. Actors definition

The actors that will interact with MIS-SIM are the following:

- Main Actors:
 - Content Creator: can create or edit different tasks according to pedagogical guidelines described by a teacher. The content creator can also run the created scenario in order to test what has been created.
 - Professor: can create or edit its own tasks and assign who will be able to interact with them.
 - Trainee: can run the scenario and be graded based on proven ability during the simulation.
- Secondary Actors:
 - External controller systems: In order to interact with the simulator, a controller scheme must be implemented. Controller systems need be faithful to real surgical instruments and track their spatial position. In its current build, MIS-SIM will be integrated with the SIMENDO laparoscopy pro3 haptic controllers [5].

3.2. Architecture

The architecture of the MIS-SIM simulator is shown in Figure 1. The base is **Unity Engine** which provides an abstraction over *physics*, *render* and *audio* tasks. However, in terms of readability and scalability of the simulator a series of **Managers** have been designed, responsible for controlling advanced interactions. **Managers** are initialized in the initialization scene, adding a layer over the Unity capabilities that simplify future stages of development.

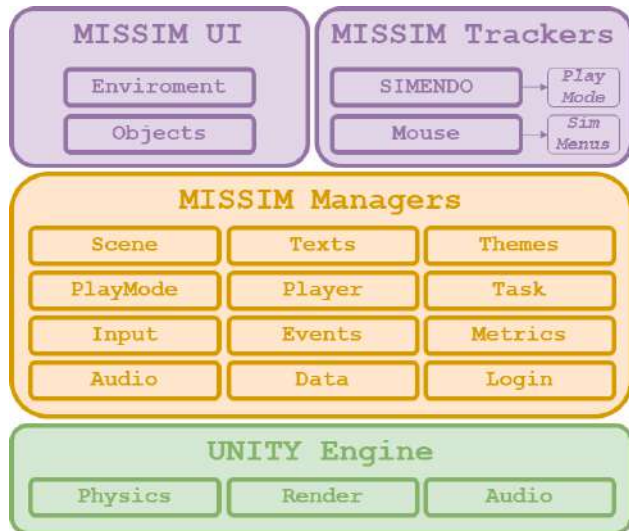


Figure 1. MIS-SIM environment architecture

Within the MIS-SIM Managers, the *Text Manager* can be highlighted. It is responsible for translating the entire application through the key-value consultation of a dictionary established for each different language in which the simulator is located. The *Themes Manager* is responsible for changing the entire user interface when the user switches between the different tool “skins”. The *Metrics Manager* controls the correct execution of the sub-goals of the task and the measurement of the global metrics associated with the task.

On top of the managers there is the user interface, which is an overlaid 2D layer above the 3D environment (which receives the mouse interactions) and the 3D environment itself whose scene objects receive the interactions from the mouse in edit mode and from the SIMENDO controller in run mode.

3.3. Screens’ flow diagram

The screens’ flow diagram of the environment is shown in Figure 2.

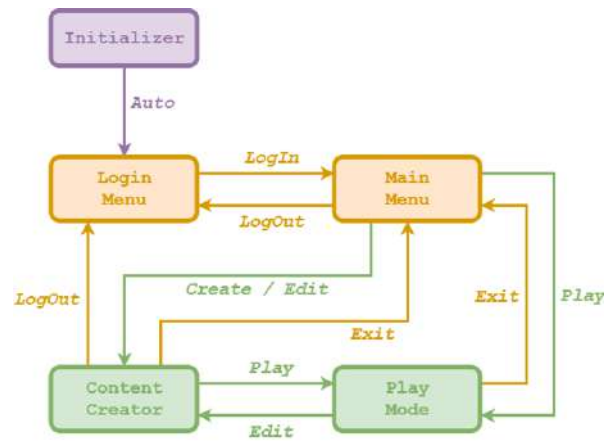


Figure 2. MIS-SIM screens flow diagram

The *Login Menu*, as its own name suggests, shows the user the screen where he or she can enter his or her access data, also allowing to configure the interface language using an intuitive drop-down menu.

In the *Main Menu*, the **professor** or the **content creator** user will be able to select between *Content Creator Mode* to design a new task; *Play Mode* to run a task, or *Manage tasks* to access and edit tasks from the Cloud Repository. On the other hand, the **trainee** user can only load tasks and play them.

In *Content Creator Mode*, **professors** and **content creators** will be able to create a task with whatever elements that are deemed necessary. The scene presents a 3D environment (the workspace and the task) overlaid with the user interface. In the user interface it is possible to configure properties of the objects introduced in the scene, their behaviour according to the task’s goals and the local metrics of the object. Finally, global metrics can be configured, as well as whether the goals of the task must be accomplished in order.

In *Play Mode*, **students** will be able to load and run tasks. For each new task execution, a metric file (according to the task design) is generated and at the end of the session uploaded to the Cloud Repository.

3.4. User interface design

Usability implies that users should be able to use MIS-SIM (for creating or running surgical tasks) without finding the process frustrating or annoying. A user interface design process has been followed to deliver a smooth user experience in a simple and accessible way, taking into account the target users of the environment.

Figures 3-5 show three different mock-up views of the editor. Figure 3 shows the main view of the environment where information about the objects can be found. The user can place a new object (for example, from the prefab tab) in the scene, or edit an existing one modifying its different properties (location, scale, rotation, colour...). Within this main window users can also set object metrics such as distance, object drops, or collisions with other objects.

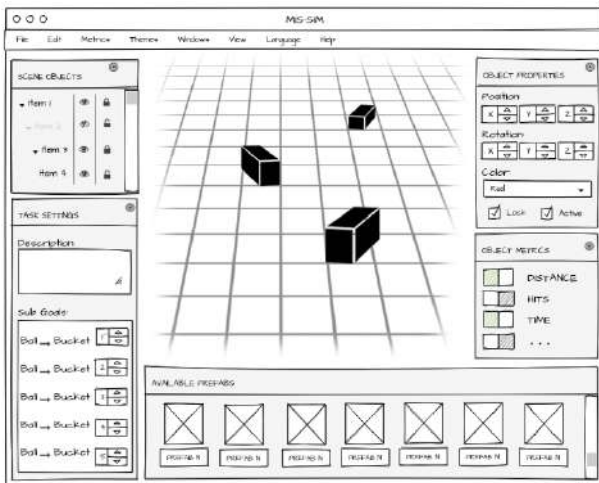


Figure 3. Main view of MIS-SIM

Figure 4 shows a mock-up for the definition of global metrics. Current global metrics available are: total simulation time and total distance travelled by the right and left gripper of the laparoscopic instruments

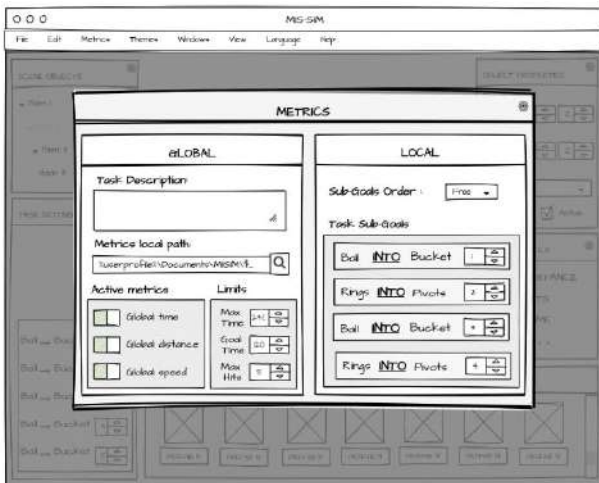


Figure 4. Metrics definition view of MIS-SIM

Once a task has been created, and is assigned to a student, he/she can run it in a window similar to Figure 5.

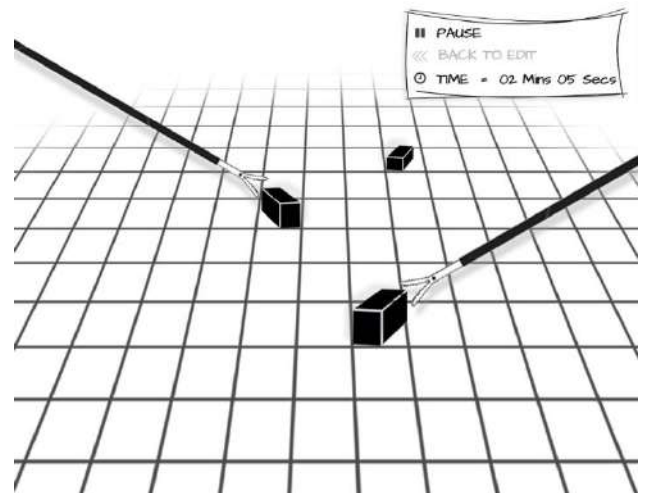


Figure 5. Runtime mock-up of MIS-SIM

4. MIS-SIM implementation

MIS-SIM has been developed using the game engine Unity 3D. Unity allows the use of C#, UnityScript and Boo scripts for its attachable components onto GameObjects in the scene.

The current prototype can be seen in ¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.. It is an early approach to Figure 3, with the availability of editing behaviours associated to an evaluating object, the ability to manage the scene intuitively with the mouse, keyboard shortcuts and menu bar that should be expected in any editor.

Figure 7 shows how the user interface during the game is as non-intrusive as possible so as not to distract the trainee while carrying out a task.

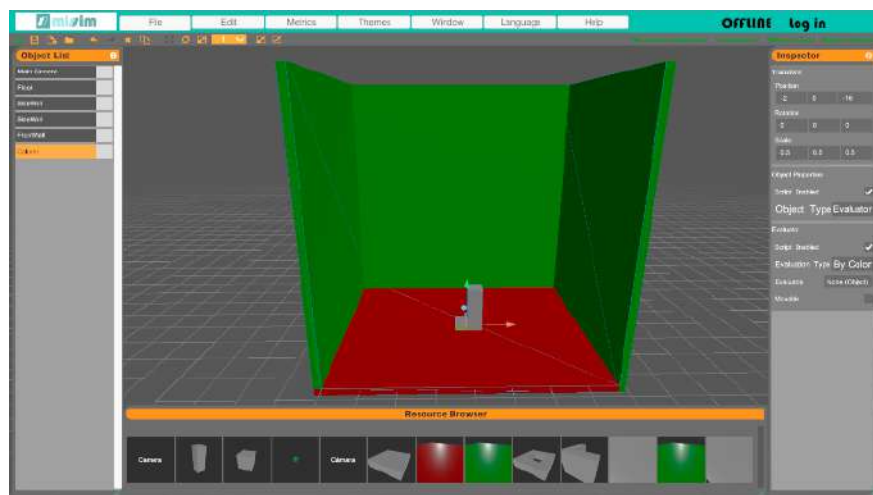


Figure 6. Main view

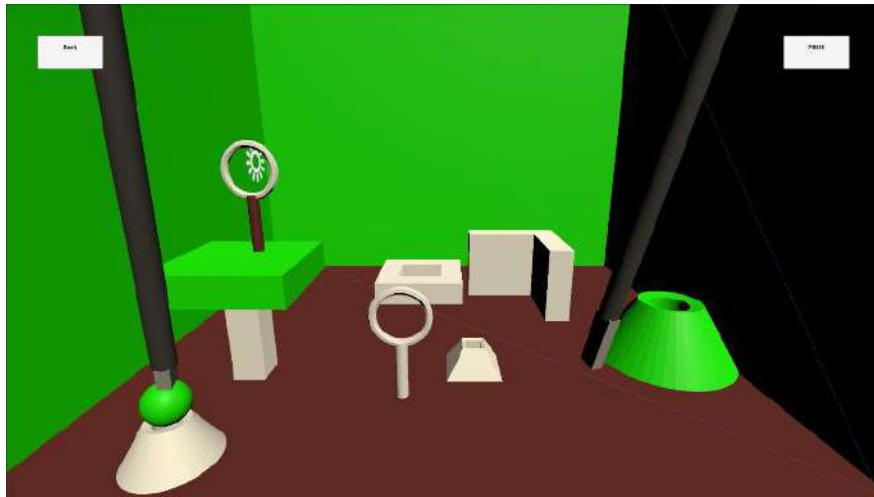


Figure 7. Runtime view

5. Discussion

In this study we have presented a novel VR simulator for MIS training allowing course creators the means to define their own training tasks. The need for new personalized training contents is clear in the surgical community. MIS-SIM fills an existing gap in the state of the art: an editor that can be used to create, edit and run personalized virtual tasks and scenarios designed for surgical training.

With this new environment content creators and professors will be able to define personalized MIS training activities tailored to the pedagogical needs of their students, reinforced by all the advantages of VR systems such as repeatability or objectivity. Learners will thus benefit from having VR tasks built to cater for their specific needs.

Once the editor is developed a pilot programme will be carried out in two European sites, The Netherlands (Leiden University Medical Center) and Hungary (Semmelweis University). The pilot will integrate the use of MIS-SIM in these medical institutions regular training courses. Additionally, short courses will be programmed during the academic year. Validation will be carried out within the framework of an EIT Health Campus project.

With these courses we expect to generate evidence on the learning curves of trainees as well as on the predictive validity (i.e.: transfer of skills to the OR) based on MIS-SIM performance data gathered at the different validation sites.

6. Conclusions

Introducing a new VR-based learning paradigm will contribute to improve the efficiency and effectiveness of training technical skills between surgeons. MIS-SIM provides personalised and adaptive learning for medical professionals in patient-free environments thanks to its innovative methods for content creation. Its use will help reduce the learning curves and to train more confident professionals.

Acknowledgements

This work has been partially funded by EIT Health. EIT Health is supported by the EIT, a body of the European Union.

References

- [1] Lamata de la Orden P (2006) Metodología de análisis, diseño y evaluación de simuladores virtuales laparoscópicos. PhD thesis, Universidad Politécnica de Madrid.
- [2] Våpenstad C, Buzink SN (2013) Procedural virtual reality simulation in minimally invasive surgery. *Surg Endosc* 27:364–77. doi: 10.1007/s00464-012-2503-1
- [3] Feldman LS, Sherman V, Fried GM (2004) Using simulators to assess laparoscopic competence: Ready for widespread use? *Surgery* 135:28–42. doi: 10.1016/S0039-6060(03)00155-7
- [4] Scrum methodology- <http://scrummethodology.com/> Last access: 15/07/2018
- [5] SIMENDO laparoscopic HW system <http://www.simendo.eu/index.php/simendo-laparoscopy/>. Last access: 15/07/2018

Premio José M^a Ferrero

Jueves, 22 de noviembre

Estudio del efecto de la conducción de volumen en medidas de conectividad funcional derivadas de la coherencia

S. J. Ruiz-Gómez¹, C. Gómez¹, J. Poza¹, P. Núñez¹, V. Rodríguez-González¹, A. Martín-Montero¹, A. Maturana-Candelas¹, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, saul.ruiz@gib.tel.uva.es

Resumen

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la conducción de volumen en varias medidas de conectividad derivadas de la coherencia: magnitud al cuadrado de la coherencia (MSCOH), la parte imaginaria de la coherencia (iCOH) y la coherencia con el retardo de fase eliminado (lagCOH). Estas medidas se han aplicado a (i) un modelo de 19 osciladores acoplados, y a (ii) un conjunto de registros EEG de 38 pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA), 10 pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y 18 controles. Nuestros resultados muestran que la MSCOH y la lagCOH son más sensibles a los incrementos de sincronización del modelo que la iCOH. Sin embargo, la MSCOH está más influida por correlaciones espurias producidas por la conducción de volumen que la iCOH y la lagCOH. Por otro lado, los resultados sobre los registros EEG muestran un aumento estadísticamente significativo de la lagCOH en la banda θ en las primeras etapas de la demencia que evoluciona hacia una disminución en la banda α en la etapa de EA severa. Estos patrones de conectividad anormales parecen debidos a alteraciones en el cerebro de los pacientes.

1. Introducción

El cerebro humano puede verse como una red compleja definida por las interacciones entre billones de neuronas. Distintas técnicas neurofisiológicas han sido utilizadas para estudiar estas dinámicas neuronales, como la electroencefalografía (EEG). El EEG registra los campos eléctricos generados por la actividad cerebral de forma no invasiva. Su alta resolución temporal permite el estudio de los procesos involucrados en los sistemas cerebrales complejos. La principal limitación de esta técnica es que no hay una relación única entre las series temporales registradas por los electrodos situados sobre el cuero cabelludo y las fuentes neuronales activas en el cerebro [1]. Como consecuencia, pueden aparecer correlaciones espurias entre las series temporales registradas, lo cual se conoce como el “problema de conducción de volumen”.

Con objetivo de analizar y caracterizar la conducción de volumen se han empleado distintos modelos de señales sintéticas. Uno de los más extendidos y estudiados es el modelo de osciladores globalmente acoplados de Kuramoto [2]. Las medidas de conectividad se utilizan para obtener una caracterización completa de la dinámica cerebral. Este modelo va a permitirnos evaluar la habilidad de estas medidas para detectar cambios reales en la sincronización de las series temporales.

Diferentes alteraciones a nivel cognitivo, funcional y de comportamiento pueden producir cambios en los patrones de sincronización neuronal. La demencia debida a la

enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de patología neurodegenerativa, afectando aproximadamente al 38% de las personas de más de 85 años [3]. El deterioro cognitivo leve (DCL) por EA es una etapa clínica muy importante. Aunque la actividad cognitiva de los pacientes con DCL por EA está deteriorada, éstos mantienen su independencia en las habilidades funcionales y sociales [4].

El objetivo de este trabajo es analizar cómo afecta la conducción de volumen a distintas medidas derivadas de la coherencia. Concretamente, se han abordado las siguientes preguntas de investigación: (i) ¿qué medida derivada de la coherencia es capaz de detectar mejor las interacciones subyacentes sin verse afectada por la conducción de volumen?; y (ii) ¿es esta medida capaz de reflejar los cambios que la demencia por EA provoca en cada fase de la enfermedad?

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad EEG basal de 68 sujetos: 13 pacientes con EA severa (EA_s), 14 pacientes con EA moderada (EA_m), 11 pacientes con EA leve (EA_l), 11 pacientes con DCL y 19 sujetos de control de edad avanzada. No se encontraron diferencias significativas en edad entre los grupos (p -valor > 0.05 , test de Kruskal-Wallis). El diagnóstico de los pacientes fue realizado de acuerdo a los criterios del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association*. 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 informado.

	Control	DCL	EA_l	EA_m	EA_s
N ^a	19	11	11	14	13
Edad ^b	76 [73 81]	81 [79 85]	78 [75 85]	82 [74 87]	80 [76 86]
Sexo ^c	11 : 8	2 : 9	6 : 5	3 : 11	1 : 12
MMSE ^d	29 [28 30]	24 [22 25]	22 [20 23]	15 [14 16]	3 [0 9]

Tabla 1. Datos sociodemográficos y clínicos por grupo. ^aN: Número de sujetos; ^bEdad: años, mediana [rango intercuartil, IQR]. ^cSexo: Hombres : Mujeres; ^dMMSE: Mini-Mental State Examination, mediana [IQR].

2.2. Registro EEG

El registro de las señales EEG se realizó a una frecuencia de muestreo de 500 Hz con un equipo de 19 canales colocados de acuerdo con el Sistema Internacional 10-20 en los siguientes electrodos: Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1 y O2. Durante los 5 minutos de registro los sujetos se encontraban relajados, despiertos y con los ojos cerrados.

Los registros fueron preprocesados en tres pasos: (i) filtrado con una ventana de Hamming entre 0.5 y 70 Hz; (ii) análisis de componentes independientes (ICA, *Independent Component Analysis*) para minimizar la presencia de artefactos oculográficos, cardiográficos y miográficos; y (iii) selección de las épocas de 5 segundos libres de artefactos mediante inspección visual [5].

3. Métodos

3.1. Modelo de Kuramoto

Para estudiar cómo las distintas medidas derivadas de la coherencia son capaces de detectar cambios reales en la sincronización se ha utilizado un modelo global de osciladores acoplados, descrito originalmente por Kuramoto [2]. Este modelo describe las dinámicas de fase de una red de N osciladores acoplados mediante la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{d\theta_i}{dt} = \omega_i + \frac{K}{N} \sum_{j=1}^N \sin(\theta_j - \theta_i) \quad (1)$$

donde θ_i es la fase del oscilador i , ω_i es la frecuencia natural del oscilador i , y K es la intensidad global de acoplamiento entre los distintos osciladores. Por tanto, la evolución de la fase de cada oscilador está determinada por su frecuencia natural y el promedio de las influencias del resto de osciladores.

Las frecuencias naturales de cada oscilador fueron tomadas aleatoriamente de una distribución de Lorentz centrada en ω_i y de un ancho γ [1]:

$$g(\omega) = \frac{\gamma}{\pi[\gamma^2 + (\omega - \omega_i)^2]} \quad (2)$$

Para llevar a cabo la simulación de los modelos se ha utilizado un sistema con $N = 19$ osciladores. A pesar de que para obtener resultados analíticos es teóricamente necesario tener un número infinito de osciladores, se ha demostrado previamente que se pueden obtener resultados empíricos con un número limitado de osciladores [6]. Para cada oscilador, la ecuación (1) fue numéricamente integrada en intervalos de tiempo de 2 ms (correspondientes a una frecuencia de muestreo de 500 Hz). En todas las simulaciones, los primeros 10 segundos fueron descartados para eliminar estados transitorios [1]. El estado del oscilador i en el instante de tiempo t es:

$$O_i(t) = A \sin(\theta_i) \quad (3)$$

donde A es una amplitud constante para todos los osciladores. El resultado de estas series temporales se ha utilizado para crear las señales EEG sintéticas.

El voltaje sintético $V_i(t)$ del canal EEG i en un instante temporal t está relacionado con el estado del oscilador j en el mismo instante de tiempo $O_j(t)$:

$$V_i(t) = \frac{1}{2i_0 + 1} \sum_{j=i-i_0}^{j=i+i_0} O_j(t) \quad (4)$$

donde i_0 representa la contribución de la conducción de volumen a cada canal EEG. Por último, se aplicó a estas señales sintéticas el mismo preprocesado que a los registros EEG.

Los parámetros del modelo fueron definidos según la literatura previa [1]. De este modo, la frecuencia de oscilación se estableció con una frecuencia central de $\omega_i = 10$ Hz y un ancho de la distribución de Lorentz de $\gamma = 1$. Para determinar el estado del oscilador se determinó un valor de $A = 10^{-3}$ para todos los osciladores. Las simulaciones fueron calculadas para las distintas combinaciones de valores de $i_0 = [0, 4, 8]$, y $K \in [0, 8]$ en pasos de 0.5. Para cada combinación de i_0 y K se simuló 20 épocas de 5 segundos, resultando series temporales de 19 canales y de 2500 muestras, sobre las cuales se realizó el análisis de conectividad.

3.2. Medidas de conectividad

Existen una gran cantidad de medidas que analizan el acoplamiento entre los diferentes pares de electrodos EEG con el fin de caracterizar la conectividad e interacciones entre las diferentes regiones del cerebro. La coherencia (COH) es una medida ampliamente utilizada que aúna información de magnitud y de fase [7]. Se define como:

$$COH_{xy}(f) = \frac{S_{XY}(f)}{\sqrt{S_X(f)S_Y(f)}} \quad (5)$$

donde S_{XY} es el espectro cruzado de las señales X e Y , y S_X y S_Y son sus espectros de potencia. Este valor de COH es un número complejo.

A partir de esta definición se puede calcular el módulo al cuadrado de la COH ($MSCOH$), que combina la aportación de la sincronía de magnitud y de fase de las dos señales [7]:

$$MSCOH_{xy}(f) = |COH_{xy}(f)|^2 = \frac{|S_{XY}(f)|^2}{S_X(f)S_Y(f)} \quad (6)$$

Cuando la COH se proyecta sobre el eje imaginario, se obtiene la parte imaginaria de la coherencia ($iCOH$). La principal ventaja de la $iCOH$ es que descarta interacciones instantáneas, que pueden ser debidas a la conducción de volumen [8]. Está definida como:

$$iCOH_{xy}(f) = \text{Im}\{COH_{xy}(f)\} \quad (7)$$

Del mismo modo, a partir de la definición de COH se ha definido la coherencia con el retardo de fase eliminado ($lagCOH$), que mide la conectividad sin estar afectada por conducción de volumen [9]. Esta medida ha sido utilizada previamente en análisis a nivel de fuente y su definición es la siguiente [9]:

$$\text{lagCOH}_{xy}(f) = \frac{[\text{Im}\{S_{XY}(f)\}]^2}{S_X(f)S_Y(f) - \text{Re}\{S_{XY}(f)\}^2} \quad (8)$$

4. Resultados

4.1. Modelo de Kuramoto

Los resultados obtenidos a partir de los modelos de Kuramoto en función de la intensidad global de acoplamiento entre los osciladores (K) y para los distintos valores de contribución a la conducción de volumen (i_0) se pueden ver en la Figura 1.

Los valores de $MSCOH$ (Figura 1a) aumentan a medida que aumenta la intensidad del acoplamiento entre osciladores. Sin embargo, muestran una gran dependencia con la contribución de la conducción de volumen ya que se obtienen diferencias estadísticamente significativas en los valores promedio para los distintos valores de i_0 . Además, los valores promedio son muy elevados cuando los osciladores no están acoplados. Por otra parte, en la Figura 1b se puede ver que la $iCOH$ no está afectada por la conducción de volumen, pero tampoco es sensible a la variación de la intensidad del acoplamiento entre osciladores. Por último, la lagCOH (Figura 1c) muestra un mejor comportamiento que las otras dos medidas, dado que la medida está muy poco afectada por la conducción de volumen y es sensible a la variación del acoplamiento entre osciladores.

En base a estos resultados, el posterior análisis de los registros reales de EEG se realizó usando únicamente la lagCOH , ya que fue la medida que mostró un mejor comportamiento en relación a la conducción de volumen y la sensibilidad al acoplamiento.

4.2. Registros EEG

Dado que los resultados obtenidos mediante la lagCOH son dependientes de la frecuencia, se promediaron para las bandas de frecuencia clásicas (δ , 1-4 Hz; θ , 4-8 Hz; α , 8-13Hz; β_1 , 13-19 Hz; β_2 , 19-30 Hz; y γ , 30-70 Hz).

La Figura 2 muestra los p -valores para las distintas comparaciones realizadas, 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 en comparación con los controles, mientras que los tonos azules denotan decrementos significativos.

Nuestros resultados reflejan aumentos estadísticamente significativos de la lagCOH en la banda θ en las primeras etapas de la demencia en comparación con los sujetos de control. Esta tendencia evoluciona hacia un aumento de la conectividad en la banda γ , más significativo en la etapa de EA moderada. Por último, en la etapa más severa de la EA se puede apreciar una disminución de la lagCOH en la banda α .

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha estudiado el comportamiento de tres medidas derivadas de la coherencia ($MSCOH$, $iCOH$, y lagCOH) frente a la conducción de volumen mediante un modelo de 19 osciladores acoplados. Además, se ha analizado una base de datos de registros EEG.

A pesar de que la lagCOH fue propuesta como una medida de conectividad a nivel de fuente [9], nuestros análisis con datos sintéticos han mostrado que apenas está afectada por la conducción de volumen. Otras medidas han sido propuestas para minimizar el problema de la conducción de volumen, pero sólo en algunos casos se ha evaluado su comportamiento usando señales sintéticas [1].

Por otro lado, nuestros resultados con registros EEG coinciden con los obtenidos previamente en un estudio a nivel fuente [10], en el cual se encontraron aumentos significativos de lagCOH en las bandas δ y θ para pacientes con EA y disminuciones significativas en la banda α . Desde el punto de vista clínico, estos patrones anormales observados pueden estar debidos a alteraciones en las estructuras cerebrales de los pacientes: disminución del tamaño del hipocampo, atrofia del lóbulo temporal medial o pérdida de materia gris [11].

Es importante mencionar varias limitaciones de este estudio. En primer lugar, en este trabajo se ha estudiado el efecto de la conducción de volumen mediante un modelo simple de Kuramoto, por lo que sería interesante estudiar este efecto con modelos más complejos capaces de estimar mejor los mecanismos cerebrales, como el modelo 'Neural mass model'. En segundo lugar, sería conveniente

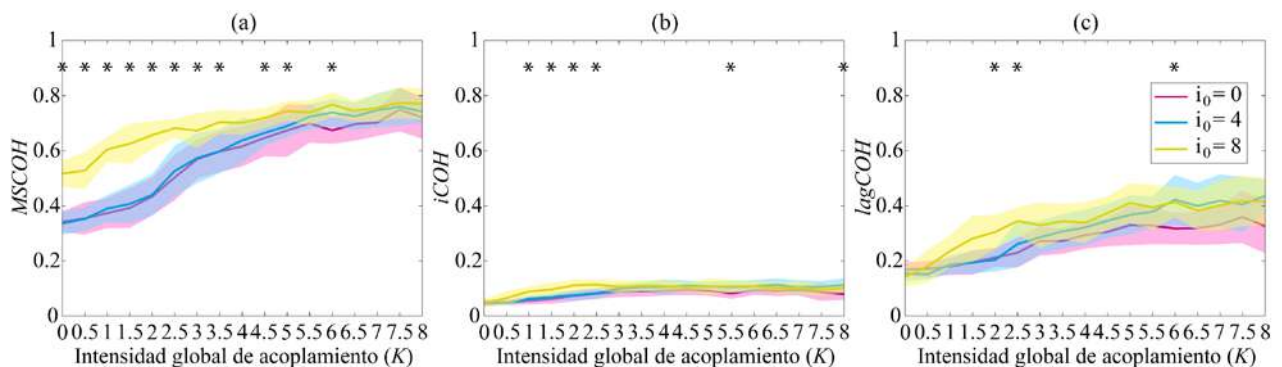


Figura 1. Valores de $MSCOH$, $iCOH$ y lagCOH en función de la intensidad global de acoplamiento K para los distintos valores de contribución a la conducción de volumen i_0 . Las líneas sólidas indican los valores promedio mientras que las áreas sombreadas indican la desviación estándar de las 20 épocas simuladas. Las diferencias significativas para los distintos valores de K se indican con asteriscos (p -valores < 0.01 , test de Kruskal-Wallis con corrección de Bonferroni).

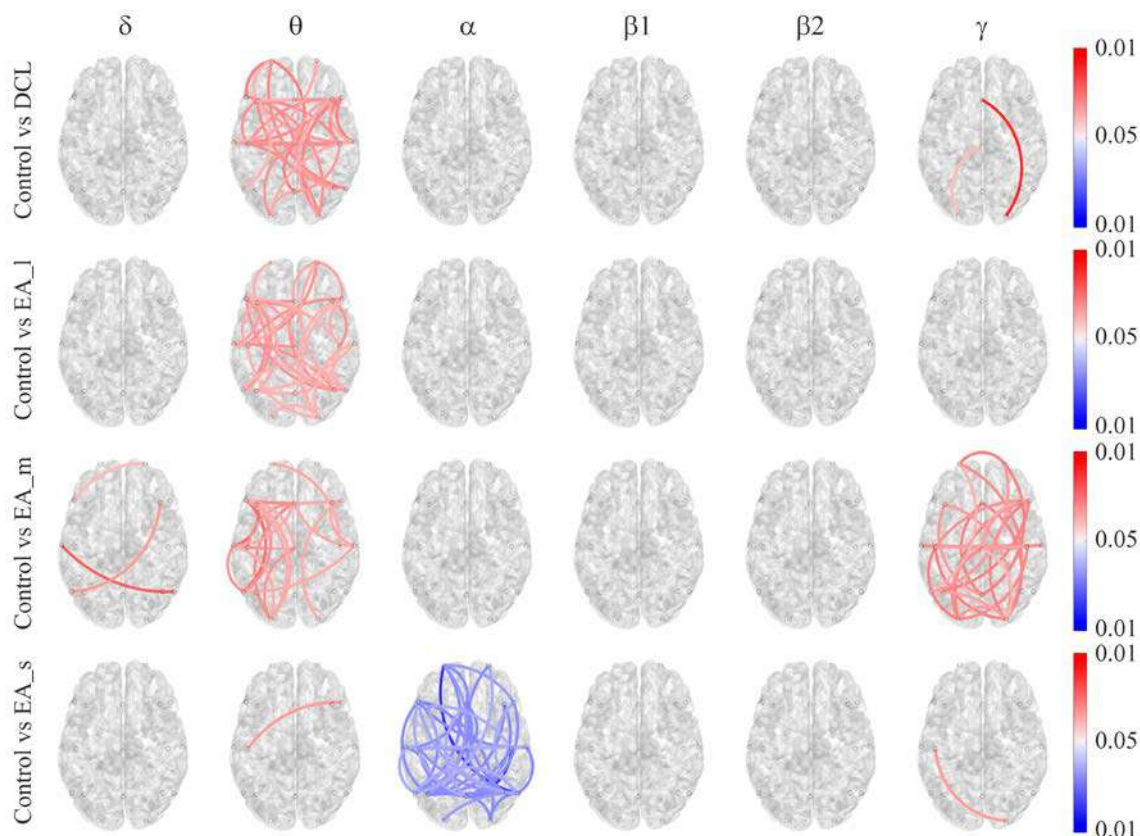


Figura 2. Diferencias estadísticamente significativas (p -valores < 0.05 ; test U de Mann-Whitney con corrección False Discovery Rate) para lagCOH en las comparativas: control vs. DCL, control vs. EA leve (EA_I), control vs. EA moderada (EA_m), y control vs. EA severa (EA_s). Los tonos rojos indican aumentos significativos de la conectividad en los pacientes en comparación con los controles, mientras que los tonos azules indican decrementos.

aumentar la base de datos con un mayor número de sujetos e intentar equilibrar el número de sujetos en cada grupo, así como eliminar las diferencias en sexo. Por último, se podrían estudiar el efecto de la conducción de volumen en otras medidas de conectividad.

Se concluye que el análisis de la actividad EEG mediante la lagCOH muestra que la demencia por EA y el DCL debido a EA provocan cambios significativos en la actividad cerebral.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto ‘Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer’ (‘Interreg V-A Spain-Portugal, POCTEP 2014-2020’) de la Comisión Europea y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y el proyecto ‘DPI2017-84280-R’ del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y FEDER. S. J. Ruiz-Gómez cuenta con un contrato predoctoral cofinanciado por la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo. P. Núñez cuenta con un contrato predoctoral FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

- [1] Stam CJ *et al.* Phase lag index: Assessment of functional connectivity from multi channel EEG and MEG with diminished bias from common sources. *Hum Brain Mapp*, 28 (1178–1193), 2007.
- [2] Kuramoto Y. Self-entrainment of a population of coupled non-linear oscillators. *Int Symp on Math Prob in Theor Phy*, 39 (420–4222), Berlin, 1975.
- [3] Alzheimer’s Association. 2017 Alzheimer’s disease facts and figures. *Alzheimer’s Dement*, 13 (325–373), 2017.
- [4] 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*, 256 (240–246), 2004.
- [5] Ruiz-Gómez SJ *et al.* Automated multiclass classification of spontaneous EEG activity in Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment. *Entropy*, 20 (1–15), 2018.
- [6] Kiss IZ *et al.* Emerging coherence in a population of chemical oscillators. *Science*, 296 (1676–1678), 2002.
- [7] Roach BJ and Mathalon DH. Event-related EEG time-frequency analysis: An overview of measures and an analysis of early gamma band phase locking in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 34 (927–926), 2008.
- [8] Bastos AM *et al.* A tutorial review of functional connectivity analysis methods and their interpretational pitfalls. *Front Syst Neurosci*, 9 (1–23), 2016.
- [9] Pascual-Marqui R. Instantaneous and lagged measurements of linear and nonlinear dependence between groups of multivariate time series: frequency decomposition *arXiv Prepr. arXiv0711.1455*, 2007.
- [10] Babiloni C *et al.* Classification of single normal and Alzheimer’s disease individuals from cortical sources of resting state EEG rhythms. *Front Neurosci*, 10 (1–18), 2016.
- [11] Dauwels J *et al.* A comparative study of synchrony measures for the early diagnosis of Alzheimer’s disease based on EEG. *Neuroimage*, 49 (668–693), 2010.

New approaches to cancer treatment: microwire-based magnetic hyperthermia

O. Mitxelena-Iribarren^{1,2}, J. Campisi^{1,2,3}, I. Martínez de Apellániz², S. Lizarbe-Sancha¹, S. Arana, V^{1,2}, Zhukova^{4,5}, A. Zhukov^{4,5,6}, M. Mujika^{1,2}

¹ Ceit, Manuel Lardizábal 15, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain, {omixelena,slizarbe,sarana,mmujika}@ceit.es

² Universidad de Navarra, Tecnun, Manuel Lardizábal 13, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain, a903993@alumni.unav.es

³ Department of Biology, Regis University, Denver, CO, 80221, USA, jcampisi@regis.edu

⁴ Dpto. Física de Materiales, UPV/EHU, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain, {valentina.zhukova, arkadi.joukov}@ehu.es

⁵ Dpto. de Física Aplicada, EUPDS, UPV/EHU, 20018, Donostia-San Sebastián, Spain

⁶ IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, 48011 Bilbao, Spain

Overview

Although significantly improved, current treatments against cancer still present remarkable drawbacks related mainly to side effects. The effectiveness of surgery, radiotherapy, chemotherapy and their combinations, besides being limited in some cases, does not always make up for the undesired invasive nature of these treatments. Therefore, the need for new approaches to overcome these difficulties is apparent. Targeted therapies appear at this scene as great potential alternatives for oncology. Among them, nanoparticle based magnetic hyperthermia stands out as a valuable technique. Clinical validation steps have highlighted some major hindrances due to clearance and toxicity, though. In this work, a novel hyperthermia approach is presented, where the targeted cell death was achieved by means of glass-coated magnetic microwires. These microvehicles were embedded into an elastomer-based microfluidic chambers, where the target osteosarcoma cells were cultured. For treatment periods below an hour the proposed method was demonstrated to be highly effective against cancer cells killing 85% of the treated population.

1. Introduction

Unfortunately, well known by society, cancer is one of the major health related issues nowadays. Both past numbers and forecasts are scary due to the broad scope of the incidence and the vast variety of cases. As a consequence, huge efforts are being directed to fight against it, focusing specially on the search of new therapies and mechanisms and on the improvement of current treatments. An example of this evolution of therapies can be found in the case of osteosarcoma, an uncontrolled malignant growth of bone cancer cells. Even though in the 1960s the discovery of therapeutic agents against it entailed a remarkable step forward, no other milestones have been set since then. However, complications that derive in limb amputation or major-surgery are still frequent. Thus, novel therapy modes are required right away.

Among the different strategies that are being faced to achieve this goal, targeted hyperthermia stands out as a potential alternative [1, 2]. Currently used as adjuvant clinical protocol in oncology, when combined with radio or chemotherapy it enhances the effect of the treatments leading to an increased tumour regression [3-8]. There are

several approaches to hyperthermia considering the mechanism applied to induce temperature increase. This can be attained either at local, regional or whole-body level [9-14] by means of methods and tools like lasers, ionizing radiation or microwaves. Nevertheless, these techniques present a significant lack of selectiveness and, thus, can affect healthy tissue surrounding the targeted area [15]. There are other options yet.

Magnetically induced hyperthermia appears to be one of the most innocuous prospective approaches for localized cancer treatment [16, 17]. This treatment was found to allow for a highly localized heat generation at inaccessible tumours while inducing minimal damage to the healthy cells nearby [18]. It is accomplished through the application of an alternating magnetic field to the tumour area where previously magnetic inclusions were placed. This energy dissipation and heating of ferromagnetic is described in terms of magnetic losses related to the magnetic domain orientation, domain wall propagation, aftereffect and eddy currents. As a result, if magnetic inclusions are located inside or near a tumour and placed in an alternating magnetic field, the tumour temperature increases. It is noteworthy the fact that the electromagnetic radiation used in magnetic hyperthermia is harmless for healthy tissue and shows enough penetration depth to access inner organs or tissues in the body [19].

Besides the localized and harmless effects for healthy tissue, hyperthermia also offers a selective actuation upon the patient cells. Based on the studies of Busch and Coley, who observed that a sarcoma disappeared after a very high fever [20, 21], it was discovered that cancer cells were vulnerable to high temperatures. In fact, they stopped growing when subjected for 20 to 60 minutes to temperatures between 41°C to 46°C [22, 23]. Conditions that healthy cells can withstand without suffering major damage.

Currently, the most usual hyperthermia applications are based on ferrofluids [24], which are made of biocompatible magnetic nanoparticles and present a high saturation magnetization. When subjected to an external AC field, they rotate to align with it producing heat every time they reverse their magnetization. The main

disadvantage they present are the unknown toxic effects derived from their accumulation in the brain, lungs, heart, kidneys, spleen, liver, small intestine and stomach and even bone marrow [25-28] and the difficulties to be cleared by kidneys due to their size and charge [29].

In order to avoid these problems, attempts were focused on the use of internal wire electrodes or thin magnetic wires [30, 31]. Concretely in this work, the application of glass-coated magnetic microwires to osteosarcoma cells is presented. Cells were subjected to different AC magnetic fields and cell viability was assessed for each condition, demonstrating the effectiveness of the microwires on osteosarcoma cells.

2. Materials and methods

2.1. Magnetic microwires

Glass-coated microwires with amorphous metallic nucleus surrounded by a thin glass coating were prepared using the Taylor-Ulitovsky technique [32]. The preparation method consisted in using a high frequency inductor to heat and melt an ingot of the desired metallic alloy composition previously placed into a Duran-like glass tube. The melted alloy formed a droplet and softened the glass tube that covered the metallic droplet. Next, the glass capillary was drawn together with the metallic nucleus and bound onto a rotating spool so that the metallic alloy fills the glass capillary forming a metallic microwire covered by a thin and flexible glass coating. In this particular case, the amorphous metallic nucleus of the microwire was made of $\text{Fe}_{77}\text{B}_{10}\text{Si}_{10}\text{C}_3$ covered with a thin glass coating. Internal diameter of the nucleus was $23\ \mu\text{m}$ and the total wire diameter $32\ \mu\text{m}$.

2.2. Microfluidic platforms

Microfluidic platforms comprised glass and polydimethylsiloxane (PDMS) parts, which were obtained by means of standard UV-lithography and replica moulding techniques. Different prototypes were fabricated combining PDMS and glass or binding two PDMS parts. For the final devices a sandwich structure was formed between the vault and the bottom substrate and the microwires, all parts bonded irreversibly through an oxygen plasma treatment.

2.3. Cell culture and reagents

The cancer cell line used in this work was the U-2 OS (ECACC 92022711, ATCC HTB-96) osteosarcoma cell line. Cells were cultured using RPMI 1640 with Ultraglutamine 1 (RPMI 1640 with U1, Life Technologies, UK) supplemented with 10% (v/v) foetal bovine serum (FBS, Life Technologies, UK) and 1% of PenStrep (Gibco®, UK) at 37°C in a humidified 5% CO_2 atmosphere [33]. For subculturing, cells were washed with PBS, trypsinized with 0.5% trypsin-EDTA 1X (Gibco®, UK) and, once mixed with supplemented medium, centrifuged at 1500 rpm for 5 minutes. After this procedure, cells were used either for subculturing (performed three times a week using conventional protocols) or for magnetic hyperthermia assays on microfluidic platforms.

As healthy cell control, the C2C12 mouse myoblast cell line was also used in this study, following the same experimental procedure but with the appropriate cell media, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Life Technologies, UK).

2.4. Experimental setup and assay protocols

The experimental setup used to apply the treatments was composed by an alternating magnetic field generation unit based on a AC powered electromagnet (California Instruments Model 801P), a PT100 thermistor coupled to a multimeter (Keithley 2000) and the microfluidic platforms with embedded microwires as cell incubation units. (Figure 1). During the incubation periods after treatment application cells were kept at 37°C in a humidified 5% CO_2 atmosphere inside an incubator.

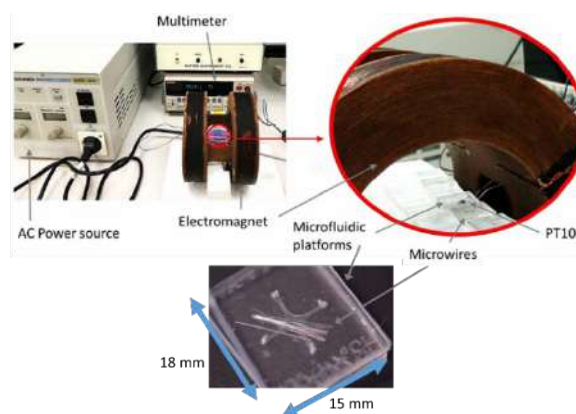


Figure 1. Experimental setup for magnetic hyperthermia assays.

Osteosarcoma and myoblast cells were seeded at a concentration of 7×10^4 cells/ml in separate microfluidic platforms and left incubating for 24 hours to promote their adherence to the bottom of the platform. Cells were then exposed for 50 minutes to low (19.2 kA/m), medium (24 kA/m) and high (28 kA/m) AC magnetic fields both in presence and absence of magnetic microwires. These were placed following different configurations with regards to the magnetic field: parallel, orthogonal or obliquely.

For cell viability assessment, images of the microfluidic chambers were recorded prior and 24, 48 and 72 hours after the treatment with a Nikon Eclipse TS100 microscope and the number of cells was quantified using ImageJ. Results are shown as a percentage of remaining cells relative to the initial concentration, represented as the mean value \pm standard deviation from corresponding replicates per category. Statistical data analysis was done performing independent student's t-test and statistical difference was determined as significant when the p-value was higher than 0.05.

3. Results and discussion

Experimental assays were performed in order to assess the following main parameters. First, the appropriateness of the PDMS for cell culture and treatment purposes. Second, the dependency of cell behaviour on the intensity of the magnetic field applied to excite the microwires. Finally, the effectiveness of the hyperthermia effect

achieved by the combination of the field and the relative microwire orientation. In the following sections the results obtained will be presented and discussed.

3.1. Microfluidic platform material

In order to assure that the culture of osteosarcoma cells onto PDMS substrates did not induce significant behavioural changes to cells, viability assays were carried out with different substrate conditions. Polystyrene (PS) of the microwells and oxygen-plasma treated microscope slides (glass) were taken as references for cell culture. On the other hand, plasma treated and untreated PDMS were analysed. As shown in Figure 2, cells grown onto both treated and untreated PDMS behave in a similar way to the ones cultured onto glass. Therefore, it can be concluded that PDMS is a material comparable to glass for the microfluidic platforms proposed in this work.

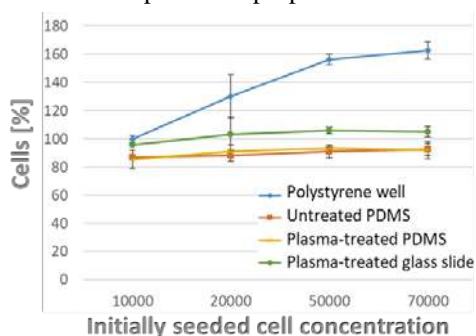


Figure 2. Cell viability onto different substrate materials.

With regards to the configuration of the microfluidic chamber and the microwires, first attempts were focused on the integration of the microwires at the bottom of a microchamber made of a PDMS vault and a glass substrate (Figure 3a). However, in this case microwires laid in contact with the glass, which prevented from uniformly heating the chamber, therefore it was discarded. As an alternative, two PDMS chambers were faced through the microwires to form the above mentioned sandwich structure (Figure 3b).

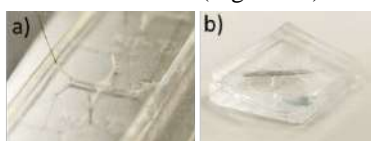


Figure 3. a) PDMS-glass platforms. b) PDMS-PDMS platforms.

3.2. Influence of field magnitude

First, it was demonstrated that the magnetic field in absence of microwires as well as the presence of microwires without applied field did not affect the normal cell growth.

With regards to field magnitude, as stated before, three amplitude levels were considered (low, medium and high), all of them at a frequency of 50 Hz. It has been reported in literature that low frequencies have no deleterious effects on human health. Besides, the lower the field magnitude, the less the risk to provoke undesired side effects.

In the case studied here, even though difference was observed both in the temperatures reached and in the

reduction of cell population subjected to the field (80°C-86% for the high, 52°C-88% for the medium and 45°C-60% for the low field), there was no statistically significant difference among the conditions. Therefore, for the subsequent analysis the medium field magnitude (24 kA/m) was selected to assure temperatures above 42°C and achieve a maximized cell population reduction.

3.3. Influence of field orientation

In the case of the relative orientation between the field and the microwires, statistically significant differences were observed for different conditions, as shown in Figure 4. While the wires positioned perpendicularly to the field produced a cell reduction of about 40%, with the parallel and oblique ones this reduction reached the 80-85%. Moreover, the ones in an oblique position provoked a faster effect than the parallel microwires.

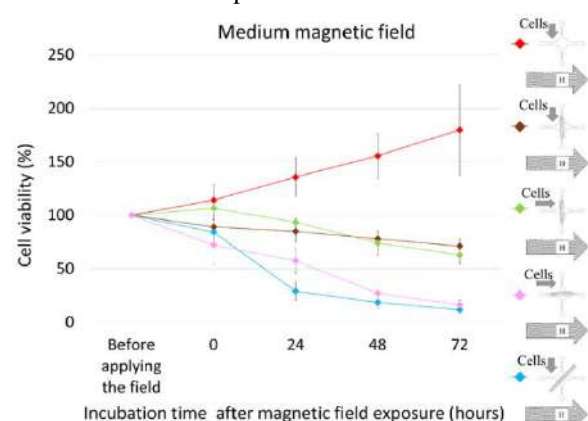


Figure 4. Effect of the different microwire-field configurations.

These results are supported by the fact that microwires present a rectangular-shape hysteresis loop, which is related to the presence of a large and single axially magnetized inner core [34]. This is why an axial magnetic field with a component parallel to the wires maximizes their magnetization and, thus, their effect [35].

3.4. Targeting capability

The targeting capability and the effectivity of the proposed treatment was validated as healthy cells exposed to the combination of magnetic microwires and the medium magnetic field demonstrated low cell reduction (20%) compared to that obtained in the osteosarcoma cell line (80%).

4. Conclusions

In this work the effective application of glass-coated magnetic microwires as vehicles for magnetic hyperthermia is demonstrated. PDMS-based double chamber microfluidic platforms with integrated microwires were used for the experimental testing. In order to minimize the deleterious side effects on human health that could arise from the magnetic fields and after observing that there was no significant difference among the three fields tested, both the amplitude and the frequency were set to low values: 24 kA/m at 50Hz. The most effective configuration of the microwires was found to be an oblique orientation with regards to the field. Finally, it was demonstrated that under these conditions

cancer cell viability was reduced down to 15%. Therefore, it can be concluded that the glass-coated magnetic microwires constitute an alternative with high potential for the targeted treatment of tumours.

Acknowledgements

Authors would like to acknowledge Fomento San Sebastián for the funding that allowed performing this research work (Programa de ayudas para impulso y mejora competitiva de proyectos empresariales innovadores). This work was also supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) under Projects MAT2013-47231-C2-1-P and by the Basque Government under the scheme of “Ayuda a Grupos Consolidados” (Ref.: IT954- 16). The PREDOC program of the Basque Government for financing Oihane Mitxelena’s PhD studies is acknowledged.

References

- [1] Q. Y. Fan, B. A. Ma, X. C. Qiu, Y. L. Li, J. Ye, Y. Zhou, *Bioelectromagnetics* 1996, 17, 218.
- [2] Q.-Y. Fan, B.-A. Ma, Y. Zhou, M.-H. Zhang, X.-B. Hao, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2003, 165.
- [3] H. H. Kampinga, *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Gr.* 2006, 22, 191.
- [4] P. Kaur, M. Hurwitz, S. Krishnan, A. Asea, *Cancers (Basel)*. 2011, 3, 3799.
- [5] W. Rao, Z.-S. Deng, J. Liu, *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 2010, 38, 101.
- [6] D. M. Brizel, S. P. Scully, J. M. Harrelson, L. J. Layfield, R. K. Dodge, H. C. Charles, T. V Samulski, L. R. Prosnitz, M. W. Dewhirst, *Cancer Res.* 1996, 56, 5347.
- [7] M. D. Hurwitz, J. L. Hansen, S. Prokopios-Davos, J. Manola, Q. Wang, B. A. Bornstein, K. Hynynen, I. D. Kaplan, *Cancer* 2011, 117, 510.
- [8] N. Shetake, M. Balla, A. Kumar, B. Pandey, *J. Radiat. Cancer Res.* 2016, 7, 13.
- [9] J. van der Zee, *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2002, 13, 1173.
- [10] P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, B. Rau, J. Gellermann, H. Riess, R. Felix, P. M. Schlag, *Lancet. Oncol.* 2002, 3, 487.
- [11] H. I. Pass, N. Vogelzang, S. M. Hahn, M. Carbone, V. T. DeVita, S. Hellman, S. A. Rosenberg, 2005.
- [12] M. H. Falk, R. D. Issels, *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Gr.* 2001, 17, 1.
- [13] A. L. Feldman, S. K. Libutti, J. F. Pingpank, D. L. Bartlett, T. H. Beresnev, S. M. Mavroukakis, S. M. Steinberg, D. J. Liewehr, D. E. Kleiner, H. R. Alexander, *J. Clin. Oncol.* 2003, 21, 4560.
- [14] E. Chang, H. R. Alexander, S. K. Libutti, R. Hurst, S. Zhai, W. D. Figg, D. L. Bartlett, *J. Am. Coll. Surg.* 2001, 193, 225.
- [15] nB nanoScale Biomagnetics, *Magnetic Hyperthermia* 2008.
- [16] Binns, C. (2013). *Magnetic Nanoparticle Hyperthermia Treatment of Tumours.* 197–215.
- [17] Ortega, D., and Pankhurst, Q.A. (2013). *Magnetic hyperthermia.* In *Nanoscience: Volume 1: Nanostructures through Chemistry.* (The Royal Society of Chemistry), pp. 60–88.
- [18] Hedayatnasab, Z., Abnisa, F., and Daud, W.M.A.W. (2017). Review on magnetic nanoparticles for magnetic nanofluid hyperthermia application. *Mater. Des.* 123, 174–196.
- [19] Bañobre-López, M., Teijeiro, A., and Rivas, J. (2013). Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports Pract. Oncol. Radiother.* 18, 397–400.
- [20] Busch, W. (1868). Aus der Sitzung der medicinischen Section vom 13 November 1867. *Berl Klin Wochenschr* 5, 137.
- [21] Coley, W.B. (1891). Contribution To The Knowledge Of Sarcoma. *Ann. Surg.* 14, 199–220.
- [22] Chiriac, H., Petreus, T., Carasevici, E., Labusca, L., Herea, D.-D., Danceanu, C., and Lupu, N. (2015). In vitro cytotoxicity of Fe–Cr–Nb–B magnetic nanoparticles under high frequency electromagnetic field. *J. Magn. Magn. Mater.* 380, 13–19.
- [23] Hervault, A., and Thanh, N.T.K. (2014). Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer. *Nanoscale* 6, 11553–11573.
- [24] Kumar, C.S.S.R., and Mohammad, F. (2011). Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 63, 789–808.
- [25] Dobrovolskaia, M.A., and McNeil, S.E. (2007). Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nat. Nanotechnol.* 2, 469–478.
- [26] Hergt, R., Dutz, S., Müller, R., and Zeisberger, M. (2006). Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *J. Phys. Condens. Matter* 18, S2919.
- [27] Neuberger, T., Schöpf, B., Hofmann, H., Hofmann, M., and von Rechenberg, B. (2005). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system. *J. Magn. Magn. Mater.* 293, 483–496.
- [28] Zhang, X.D., Wu, H.Y., Wu, D., Wang, Y.Y., Chang, J.H., Zhai, Z. Bin, Meng, A.M., Liu, P.X., Zhang, L.A., and Fan, F.Y. (2010). Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *Int. J. Nanomedicine* 5, 771.
- [29] Angelakeris, M. (2017). Magnetic nanoparticles: A multifunctional vehicle for modern theranostics. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1861, 1642–1651.
- [30] Lin, W.-S., Lin, H.-M., Chen, H.-H., Hwu, Y.-K., and Chiou, Y.-J. (2013). Shape Effects of Iron Nanowires on Hyperthermia Treatment. *J. Nanomater.* 2013, 1–6.
- [31] Zuchini, R., Tsai, H.-W., Chen, C.-Y., Huang, C.-H., Huang, S.-C., Lee, G.-B., Huang, C.-F., and Lin, X.-Z. (2018). Electromagnetic thermotherapy using fine needles for hepatoma treatment. *Eur. J. Surg. Oncol.* 37, 604–610.
- [32] A. Zhukov, A. Talaat, M. Ipatov, J. M. Blanco, V. Zhukova, *J. Alloys Compd.* 2014, 615, 610.
- [33] O. Mitxelena-Iribarren, C. L. Hisey, M. Errazquin-Irigoyen, Y. Gonzalez-Fernandez, E. Imbuluzqueta, M. Mujika, M. J. Blanco-Prieto, S. Arana, *Biomed. Microdevices* 2017, 19.
- [34] V. Zhukova, J. M. Blanco, M. Ipatov, A. Zhukov, *J. Appl. Phys.* 2009, 106, 113914.
- [35] V. Zhukova, A. Zhukov, J. M. Blanco, J. González, *Phys. status solidi* 2002, 189, 795.

Caracterización de la apnea del sueño infantil mediante nuevas bandas espectrales del EEG

A. Martín Montero¹, G.C. Gutiérrez Tobal¹, J. Poza Crespo¹, D. Álvarez González^{1,2}, F. Vaquerizo Villar¹, V. Barroso García¹, S.J. Ruiz Gómez¹, L. Kheirandish-Goza³, F. del Campo^{1,2}, D. Gozal³, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, adrian.martin@gib.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, EEUU, dgozal@peds.bsd.uchicago.edu

Resumen

Este estudio se centra en la caracterización del síndrome de la apnea-hipopnea del sueño (SAHS) infantil en el EEG nocturno. Para ello, se ha realizado un análisis espectral sobre los registros de 294 sujetos pediátricos (5-9 años) seleccionados en escuelas infantiles. El análisis espectral derivó en la definición de dos nuevas bandas de interés: i) 0.5-2 Hz, establecida cualitativamente en base a la forma del espectro; y ii) 2-2.7 Hz, estimada cuantitativamente mediante la aplicación de test de significación estadística. Posteriormente, se extrajeron medidas de potencia e irregularidad de dichas bandas para caracterizar las diferencias entre grupos de sujetos con distinto grado de afectación del SAHS. Los resultados muestran descensos de irregularidad (0.5-2 Hz) y potencia (2-2.7 Hz) conforme aumenta la severidad del SAHS. Asimismo, los parámetros de las nuevas bandas de interés correlacionaron significativamente con los arousals respiratorios, típicos del SAHS, pero no con los espontáneos, que aparecen de manera natural durante el sueño. Los resultados sugieren que los descensos de irregularidad y potencia en las nuevas bandas de interés están relacionados con la fragmentación del sueño, consecuencia directa de los arousals respiratorios. Por tanto, la información obtenida de las bandas espectrales de interés podría ser de utilidad para caracterizar la actividad neuronal específica del SAHS infantil.

1. Introducción

El síndrome de la apnea-hipopnea del sueño (SAHS) pediátrico es un trastorno caracterizado por la aparición recurrente de eventos de apnea (ausencia total del flujo aéreo) e hipopnea (reducción significativa del flujo aéreo), que alteran la ventilación normal durante el sueño [1]. Esta enfermedad tiene una alta prevalencia entre la población infantil, padeciéndola hasta un 5.7% de los niños [1]. Si no se trata adecuadamente, puede derivar en graves consecuencias tanto en el desarrollo cognitivo como en el funcionamiento cardiovascular [1].

La técnica de referencia para el diagnóstico del SAHS es la polisomnografía (PSG) nocturna, durante la que se registran gran variedad de señales fisiológicas, como el electroencefalograma (EEG), el electrocardiograma, la saturación de oxígeno en sangre o el flujo aéreo [1]. En base a estas señales, se detectan las apneas e hipopneas para calcular el índice de apnea-hipopnea (IAH), que indica el número de eventos producidos por hora de sueño [2]. El IAH se emplea tanto para diagnosticar el SAHS como para establecer su severidad [2].

Durante los eventos apnéicos son muy frecuentes los *arousals*, o microdespertares, que se reflejan en el EEG.

Estos eventos eléctricos activan los músculos dilatadores de la vía aérea superior para prevenir pausas respiratorias prolongadas durante el sueño [3]. No obstante, la aparición repetida de *arousals* provoca una fragmentación en el sueño, ocasionando ciclos anormales que derivan en un sueño no reparador [3]. La aparición de *arousals* puede producirse de manera espontánea en toda clase de sujetos o deberse a eventos propios del SAHS (*arousals* respiratorios).

El análisis espectral del EEG en la enfermedad del SAHS pediátrico es un tema relativamente inexplorado. Yang *et al.* [4], no encontraron diferencias que permitiesen caracterizar la actividad del EEG nocturno en niños con SAHS. Hasta el momento, los únicos estudios capaces de diferenciar alteraciones producidas por el SAHS pediátrico no analizaban el registro completo, sino que se centraban en los cambios en el EEG en los momentos en los que se producían eventos apnéicos [5–7].

La ausencia de cambios al analizar el registro nocturno completo de estudios precedentes podría deberse a la evaluación de las bandas que tradicionalmente se han empleado en el estudio del EEG: δ (0.5-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β_1 (13-19 Hz), β_2 (19-30 Hz) y γ (30-70 Hz). No obstante, puesto que los *arousals* respiratorios se detectan de manera natural en el EEG, este estudio parte de la hipótesis de que el SAHS pediátrico puede ser caracterizado mediante análisis espectral del mismo. Consecuentemente, el objetivo principal del estudio es la evaluación del espectro del EEG nocturno para responder a las siguientes preguntas de investigación: (i) ¿existen sub-bandas de frecuencia específicas para diferenciar la actividad cerebral durante el sueño entre niños con SAHS y niños sin SAHS?; (ii) ¿cuál es el substrato fisiopatológico subyacente que hace que se produzcan esas diferencias?

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad EEG de sujetos pediátricos, reclutados en distintos centros de educación primaria de los Estados Unidos de América y remitidos a la unidad del sueño del *Comer Children's Hospital* de la Universidad de Chicago (EE.UU) para ser sometidos a una PSG nocturna. Se trataba por lo tanto de población general, sin sospecha de padecer SAHS. La población inicial era de 309 sujetos, descartándose 15 sujetos por exceso de ruido y artefactos en la señal. En todos los casos se obtuvo el consentimiento

de los tutores legales de los niños para la realización del estudio, así como la aprobación del Comité Ético de la Universidad de Chicago.

La Tabla 1 recoge los datos demográficos y clínicos de cada grupo. No existen diferencias significativas en sexo (p -valor > 0.05 , test Chi-cuadrado) ni en edad (p -valor > 0.05 , test de Kruskal-Wallis). Para la división en grupos, los sujetos fueron diagnosticados en base a las reglas establecidas por la *American Academy of Sleep Medicine* (AASM) [8]. El índice de apnea/hipopnea (IAH) es la variable clínica empleada para determinar la severidad de SAHS. En casos pediátricos, un valor de IAH < 1 se asocia con no padecimiento de la enfermedad, y valores de IAH ≥ 5 asociados al mayor grado de severidad en SAHS, a partir del cual se recomienda cirugía [2,9]. Se ha incluido también un grupo considerado SAHS leve, con valores de $1 \leq \text{IAH} < 5$. Esta división está justificada dado que este grupo presenta mayores dificultades a la hora de tomar decisiones para tratar la enfermedad [9].

2.2. Registros electroencefalográficos

Las señales de EEG se registraron mediante una PSG nocturna con el sistema digital PolySmith (*Nikon Kohden America Inc., CA, USA*). Se adquirió la actividad cerebral en un total de 8 canales (C3, C4, O1, O2, T3, T4, F3 y F4) ubicados según el sistema internacional 10-20. La frecuencia de muestreo de los registros fue de 250 Hz y 500 Hz. Se efectuó un remuestreo a 200 Hz, frecuencia mínima recomendada por la AASM [8].

El preprocesado de los registros se llevó a cabo en 5 pasos: (i) re-referenciado promedio de los canales; (ii) filtrado con un filtro de ranura (60 Hz) y filtrado paso-banda con ventana de Hamming (0.5-70 Hz); (iii) segmentación en épocas de 30 s; (iv) rechazo automático de artefactos basado en umbralización adaptativa por épocas; y (v) descarte del tramo inicial del registro perteneciente a la latencia del sueño, y de los últimos 15 minutos del tramo final (para asegurar que el sujeto esté dormido durante todo el registro analizado).

3. Métodos

3.1. Densidad espectral de potencia

La estimación de la densidad espectral de potencia (*Power Spectral Density*, PSD), se realizó mediante el método de Blackman-Tukey, basado en el cálculo de la transformada de Fourier de la función de autocorrelación, como se ha hecho en estudios previos [10]. Para estimar la PSD, se empleó una ventana rectangular de 6000 muestras sin solapamiento, se calculó la PSD para cada una de las épocas de 30 s y se promedió a lo largo de ellas. Posteriormente se normalizó para cada sujeto en la banda 0.5-70 Hz.

	No SAHS	SAHS leve	SAHS severo
# sujetos	176	98	20
Edad (años)	6.60 \pm 0.75	6.56 \pm 0.75	6.60 \pm 0.82
Género (M/F)	104/72	55/43	10/10
IMC (kg/m ²)	17.10 \pm 2.97	18.46 \pm 4.82	19.48 \pm 5.27
IAH (e/h)	0.39 \pm 0.28	1.81 \pm 0.83	13.61 \pm 10.92

* IMC: índice de masa corporal

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de los sujetos.

3.2. Determinación de bandas espectrales de interés

La obtención de las bandas espectrales de interés se realizó en base a la PSD promedio para cada uno de los grupos (ver Figura 1), definiéndose dos bandas de interés: una de forma cualitativa y otra de forma cuantitativa.

La búsqueda cualitativa se llevó a cabo mediante la observación directa de la forma de las PSDs. En la Figura 1.b se aprecian diferencias morfológicas en la PSD de los 3 grupos de severidad del SAHS en el rango **0.5-2 Hz**. Asimismo, este rango de frecuencias es de interés dado que coincide con la actividad predominante de la fase N3 de sueño [8]. Por todo ello, el rango 0.5-2 Hz se eligió para definir la primera banda de interés.

La búsqueda cuantitativa se realizó mediante la aplicación del test estadístico de Kruskal-Wallis sobre los valores de amplitud de las componentes frecuenciales de las PSDs. Mediante este procedimiento, en la Figura 1.a se observa como en la banda **2-2.7 Hz** (sombreada en azul) los p -valores resultantes son significativos ($p < 0.05$).

3.3. Análisis espectral

Definidas las bandas de interés a analizar, se calcularon dos parámetros que se adecuasen a las características observadas para buscar diferencias entre grupos.

La entropía espectral (*Spectral Entropy*, SE) es una medida de irregularidad que evalúa la uniformidad del espectro [11], resultando adecuada para evaluar las diferencias entre las formas de las PSDs observadas en la banda de 0.5-2 Hz. Considerando M el número de puntos de la PSD en el rango 0.5-2 Hz, la SE se calculó como:

$$SE = \frac{-1}{\log(M)} \sum_{f=0.5 \text{ Hz}}^{f=2 \text{ Hz}} PSD_n(f) \log[PSD_n(f)] \quad (1)$$

La potencia relativa (*Relative Power*, RP) es un parámetro espectral que aporta información sobre la distribución de la potencia de la señal. Las diferencias obtenidas mediante el análisis cuantitativo hacen que esta medida sea adecuada para analizar la banda de 2-2.7 Hz, de modo que se calculó la RP en dicha banda de la siguiente forma:

$$RP = \frac{\sum_{f=2 \text{ Hz}}^{f=2.7 \text{ Hz}} PSD_n(f)}{\sum_{f=0.5 \text{ Hz}}^{f=70 \text{ Hz}} PSD_n(f)} \quad (2)$$

3.4. Análisis estadístico

En primer lugar, se llevó a cabo un análisis exploratorio para evaluar la distribución de los valores de SE y RP. Tras aplicar una transformación logarítmica, se observó que los datos seguían una distribución normal (test de Lilliefors) y que eran homocedásticos (test de Bartlett). Por ello se utilizó un test ANCOVA (*ANalysis of COVariance*), incluyendo como covariable la edad. Los resultados del test estadístico se corrigieron mediante la corrección *False Discovery Rate* (FDR). El umbral de significación se estableció en 0.05.

Finalmente, se empleó el coeficiente de correlación de Spearman (ρ_s) para buscar relaciones entre los parámetros obtenidos de las dos bandas con el IAH, el índice de *arousals* espontáneos (IA_E) y el índice de *arousals* respiratorios (IA_R) durante la noche. También se incluyó en el análisis los valores de RP en las bandas clásicas.

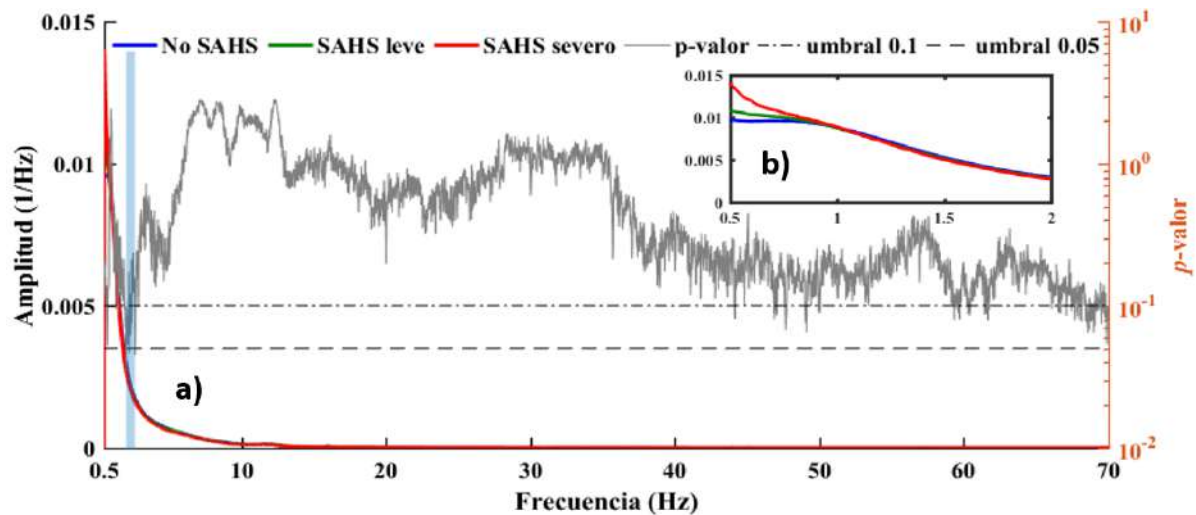


Figura 1. Representación conjunta de las PSDs normalizadas promedio para los 3 grupos de severidad. En a) se muestra el rango de 0-70Hz, incluyéndose el resultado del test estadístico. En b) se muestra la figura ampliada en el rango 0.5-2 Hz. Los p-valores representados se han multiplicado por un factor de 3 para aplicar la corrección de Bonferroni.

4. Resultados

La Figura 1 representa las PSDs normalizadas para cada uno de los grupos. En la Figura 1.a se muestra el rango de 0-70 Hz y se representa el resultado del test estadístico al comparar las PSDs. Se han sombreado en azul las frecuencias para las que el test estadístico ha mostrado diferencias significativas ($p < 0.05$). La Figura 1.b muestra los resultados ampliados en el rango de 0.5-2 Hz, apreciándose diferencias entre las formas de las 3 PSDs.

La Figura 2 muestra las comparaciones que manifestaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos de severidad para las dos bandas de interés. En ambos casos las diferencias se obtuvieron al comparar el grupo no SAHS con los dos grupos de severidad, obteniéndose diferencias más marcadas entre los no SAHS y los SAHS severo al evaluar la SE en la banda de 0.5-2 Hz. En todos los casos las diferencias se deben a decrementos conforme aumenta el IAH.

La Tabla 2 recoge los valores de ρ_S y los p-valores obtenidos al analizar la relación entre los parámetros calculados en las distintas bandas de frecuencia con el IAH, los *arousals* espontáneos y los *arousals* respiratorios. En el caso del IAH, únicamente se obtiene una correlación estadísticamente significativa (negativa) para los dos parámetros obtenidos de las bandas de interés. En el caso de los *arousals* espontáneos, se obtienen correlaciones estadísticamente significativas para la RP, siendo esta negativa en δ y positiva para las bandas θ , α y γ . Por último, los *arousals* respiratorios han mostrado correlaciones estadísticamente significativas en las bandas 0.5-2 Hz, 2-2.7 Hz, δ , θ y α , siendo todas negativas excepto en δ .

5. Discusión y conclusiones

5.1. Utilidad de las bandas de interés

En este estudio se buscaban bandas de frecuencia que permitiesen encontrar diferencias en la actividad del EEG entre niños sanos y niños que padecen la enfermedad de SAHS. El análisis basado en las PSDs promedio de los tres grupos ha permitido encontrar dos bandas que arrojan diferencias entre dichos grupos. En el caso de la banda de 0.5-2 Hz, los valores de SE se reducen al aumentar el IAH,

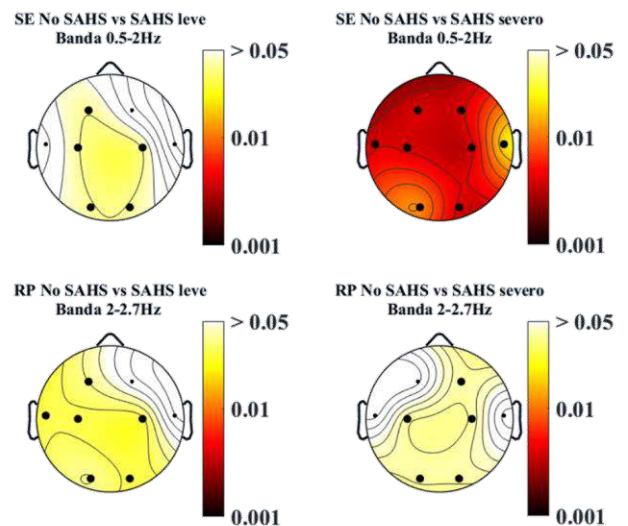


Figura 2.- Resultados estadísticos para la SE y la RP en las dos sub-bandas de interés. Los electrodos con diferencias significativas ($p < 0.05$) aparecen resaltados.

Característica	IAH		IA _E		IA _R	
	ρ_S	p-valor	ρ_S	p-valor	ρ_S	p-valor
SE 0.5-2 Hz	-0.20	$1.5 \cdot 10^{-4}$	-0.03	0.592	-0.22	$1.5 \cdot 10^{-4}$
RP 2-2.7 Hz	-0.19	$9.5 \cdot 10^{-4}$	-0.07	0.189	-0.20	$9.5 \cdot 10^{-4}$
RP δ	0.05	0.413	-0.29	$4.2 \cdot 10^{-7}$	0.24	$3.5 \cdot 10^{-5}$
RP θ	-0.09	0.128	0.19	$8.9 \cdot 10^{-4}$	-0.17	0.003
RP α	-0.07	0.221	0.20	$3.7 \cdot 10^{-4}$	-0.24	$4.6 \cdot 10^{-5}$
RP β_1	0.05	0.412	0.16	0.006	-0.08	0.151
RP β_2	0.07	0.254	0.07	0.256	-0.07	0.212
RP γ	0.10	0.068	0.29	$3.2 \cdot 10^{-7}$	-0.09	0.124

Tabla 2. Correlación de las características extraídas en las distintas bandas de frecuencia con el IAH, el IA_E y el IA_R.

lo cual implica un descenso de irregularidad del EEG conforme aumenta el nivel de SAHS. Para la banda de 2-2.7 Hz, los resultados de RP también reflejan un descenso de potencia conforme aumenta la severidad del SAHS, lo que implica una mayor actividad cerebral de los sujetos no SAHS en este rango. Por lo tanto, en este estudio se han encontrado diferencias significativas que permiten caracterizar la actividad cerebral del EEG en niños con SAHS analizando el registro de toda la noche, a diferencia

de otros estudios previos que no las encontraron [4], o analizaban eventos aislados [5–7].

La mayor concentración de potencia en torno a 1 Hz en el grupo SAHS severo, junto con los resultados obtenidos para los parámetros empleados en las dos bandas de frecuencia de interés podría estar ligada de forma directa con la fragmentación del sueño que sufren los sujetos con SAHS. La AASM indica que la fase N3 de NREM (*No Rapid Eye Movement*) se caracteriza por una mayor actividad entre 0.5 y 2 Hz, mientras que la fase REM (*Rapid Eye Movement*) destaca por ondas entre 2 y 6 Hz [8]. Los resultados de RP junto con la visualización de las PSDs parecen reflejar que, a lo largo de la noche, los sujetos con SAHS han permanecido más tiempo en la fase N3, mientras que los sujetos no SAHS permanecen más tiempo en la fase REM. Junto con estos resultados, el descenso de irregularidad en el EEG al aumentar el IAH podría deberse al menor número de cambios entre fases que experimentan los sujetos con SAHS, lo cual es causa directa de la fragmentación del sueño e implica menores cambios en los eventos de EEG asociados a esas fases.

5.2. Relación con los arousals

La fragmentación del sueño en los sujetos con SAHS se debe a los *arousals* respiratorios, para los cuales se ha estudiado la correlación con los parámetros obtenidos. En el estudio de correlaciones, en primer lugar, destaca la correlación negativa entre los dos parámetros analizados en el estudio con el IAH, lo cual respalda los resultados anteriores. Adicionalmente, los resultados han reflejado que las bandas de frecuencia clásicas muestran correlaciones estadísticamente significativas tanto para los *arousals* espontáneos (que tienen lugar de forma independiente al SAHS) como con los respiratorios. Sin embargo, la relación entre los parámetros en las bandas de interés analizadas y los *arousals* reflejan que estos parámetros únicamente tienen correlación con los *arousals* respiratorios, los cuales son consecuencia directa de la patología. Los resultados obtenidos son coherentes con los obtenidos por Liu *et al.* [12], que analizaron la diferencia en los índices de *arousals* entre niños sanos y con SAHS. En su estudio encontraron un mayor número de *arousals* en los pacientes, que además se producían con mayor frecuencia en las fases NREM, dando lugar a una mayor fragmentación del sueño.

5.3. Limitaciones y líneas futuras

Este estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar, aunque el número de sujetos totales es elevado en comparación a estudios previos, sería conveniente aumentar esta base de datos, tratando de equilibrar el número de sujetos con SAHS severo a los otros dos grupos. Además, aunque el enfoque ha permitido caracterizar alteraciones a lo largo de la noche, no se disponía de la información relativa al hipnograma de los sujetos, lo que permitiría relacionar los resultados con las fases del sueño de forma más robusta.

6. Conclusiones

El presente estudio ha permitido encontrar dos bandas de frecuencias de interés, la banda de 0.5-2 Hz y la banda de 2-2.7 Hz, en las cuales mediante medidas de potencia e irregularidad se ha podido caracterizar diferencias en el

EEG durante el sueño entre niños no SAHS y niños que padecen la enfermedad. Además, el estudio de correlaciones con los *arousals* sugiere que estas diferencias son debidas a la fragmentación del sueño que provocan dichos *arousals*, observándose una correlación negativa entre los parámetros empleados en las bandas de interés y los *arousals* propios de la patología. Todo ello indica que los parámetros empleados en las bandas encontradas son útiles para caracterizar la enfermedad del SAHS, en detrimento de las bandas clásicas.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y FEDER (DPI2017-84280-R y RTC-2015-3446-1) y la ‘European Commission’ y FEDER (POCTEP 0378_AD_EEGWA_2_P). F. Vaquerizo Villar cuenta con un contrato predoctoral para la Formación de Profesorado Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. V. Barroso García y S.J. Ruiz Gómez cuentan con una ayuda concedida por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo.

Referencias

- [1] C. L. Marcus *et al.*, “Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome,” *Pediatrics*, vol. 130, no. 3, pp. e714–e755, 2012.
- [2] M. L. Alonso-Álvarez *et al.*, “Documento de consenso del síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño en niños (versión completa),” *Arch. Bronconeumol.*, vol. 47, no. 5, pp. 2–18, Jan. 2011.
- [3] F. Lopez-Jiménez *et al.*, “Obstructive sleep apnea: Implications for cardiac and vascular disease,” *Chest*, vol. 133, no. 3, pp. 793–804, 2008.
- [4] J. S. C. Yang *et al.*, “Determining sleep quality in children with sleep disordered breathing: EEG spectral analysis compared with conventional polysomnography,” *Sleep*, vol. 33, no. 9, pp. 1165–72, 2010.
- [5] R. D. Chervin *et al.*, “Correlates of Respiratory Cycle-Related EEG Changes in Children with Sleep Disordered Breathing,” *Sleep*, vol. 27, no. 1, pp. 116–121, 2004.
- [6] H. P. R. Bandla and D. Gozal, “Dynamic changes in EEG spectra during obstructive apnea in children,” *Pediatr. Pulmonol.*, vol. 29, no. 5, pp. 359–365, 2000.
- [7] J. S. C. Yang *et al.*, “EEG spectral analysis of apnoeic events confirms visual scoring in childhood sleep disordered breathing,” *Sleep Breath.*, vol. 16, no. 2, pp. 491–497, 2012.
- [8] C. Iber *et al.*, “The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events: Rules, Terminology and Technical Specifications,” *AASM Manual for Scoring Sleep*. 2007.
- [9] O. S. Capdevila *et al.*, “Pediatric Obstructive Sleep Apnea: Complications, Management, and Long-term Outcomes,” in *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2008, vol. 5, no. 2, pp. 274–282.
- [10] J. Poza *et al.*, “Extraction of spectral based measures from MEG background oscillations in Alzheimer’s disease,” *Med. Eng. Phys.*, vol. 29, no. 10, pp. 1073–1083, 2007.
- [11] T. Inouye *et al.*, “Quantification of EEG irregularity by use of the entropy of the power spectrum,” *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 79, no. 3, pp. 204–210, 1991.
- [12] D. B. Liu *et al.*, “Characteristics of electroencephalogram arousals of sleep-disordered breathing children at different sleep stages,” *Chin. Med. J. (Engl.)*, vol. 129, no. 23, pp. 2876–2878, 2016.

Estudio de nuevos hidrogeles basados en mezclas de poli (vinil alcohol) (PVA) y quitosano (CS) reforzados con partículas inorgánicas de vidrio bioactivo

O. Sánchez¹, A. Lejardi¹, R. Hernández², C. Mijangos², J.R. Sarasua¹

¹ Departamento de Ingeniería Minero-Metalúrgica y Ciencia de los Materiales y POLYMAT, Universidad del País Vasco, Bilbao, España

² Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC, c/Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, España

Resumen

En el presente trabajo, se han desarrollado hidrogeles termosensibles basados en quitosano/poli(vinil alcohol). Gracias a su buena biocompatibilidad, no citotoxicidad y una transición sol-gel cercana a la temperatura corporal, se trata de un sistema polimérico con amplio potencial en aplicaciones biomédicas. No obstante, cuenta con unas propiedades mecánicas insuficientes para soportar las cargas que aparecen dentro del cuerpo. Se ha planteado reforzar estos hidrogeles con partículas de vidrio bioactivo, con el objetivo de mejorar las propiedades mecánicas y la bioactividad, y ver cómo influye el refuerzo en la cinética de liberación del fármaco. Una vez fabricado, estos hidrogeles se han caracterizado mediante SEM, XRD, pruebas de hinchamiento, reología, y estudios de liberación de fármaco.

1. Introducción

Un hidrogel consiste en una red tridimensional de cadenas poliméricas flexibles interconectadas, capaz de absorber grandes cantidades de agua [1].

Más concretamente, los hidrogeles hidrófilos, insolubles en agua y elásticos, cuentan con una gran variedad de aplicaciones, entre ellas biomédicas, siendo las propiedades a tener en cuenta el hinchamiento, las propiedades mecánicas, la permeabilidad y la biocompatibilidad. Dentro de las aplicaciones biomédicas, por una parte, están recibiendo cada vez más atención en la ingeniería de tejidos, ya que estos hidrogeles pueden llegar a imitar un entorno biológico [2]. Por otra parte, son muy adecuados para sistemas de liberación controlada de fármacos, pudiendo administrar un fármaco de forma constante en el organismo, siempre por encima del mínimo efectivo, y por debajo del mínimo tóxico [3]. Esto es posible gracias a la gran capacidad de hinchamiento en medio acuoso que presentan, ya que a medida que aumenta el volumen acuoso en hidrogel, su tamaño tridimensional también se amplía, posibilitando al fármaco liberarse a través de la red.

En el presente trabajo, los hidrogeles estudiados han sido los basados en mezclas de quitosano (CS) y poli (vinil alcohol) (PVA).

El quitosano (CS) es un aminopolisacárido semicristalino obtenido mediante la desacetilación de la quitina. Cuenta con propiedades como no toxicidad, biodegradabilidad, y

excelente biocompatibilidad, por lo que está siendo ampliamente utilizado en ámbitos biomédicos y farmacéuticos [4].

El poli (vinil alcohol) (PVA) es un polímero sintético semicristalino de acetato de vinilo y alcohol de vinilo, soluble en agua. Entre sus propiedades destacan su buena biocompatibilidad y no toxicidad, siendo muy adecuado para aplicaciones biomédicas, al igual que el quitosano [5].

La combinación de ambos polímeros tiene como resultado un hidrogel con una red tridimensional formada a través de interacciones físicas, evitando el uso de agentes entrecruzantes para su fabricación. Una de las características a destacar de estos hidrogeles es su termosensibilidad, pudiendo pasar del estado sol al gel al alcanzar la temperatura de transición, en este caso de 37°C (cercana a la temperatura corporal) [6]. Esto posibilita su uso como un líquido inyectable, el cual se transforma en un hidrogel semisólido una vez inyectado a temperatura corporal [7].

Aunque cuenten con muchas ventajas, las propiedades mecánicas de estos hidrogeles son insuficientes para soportar algunas cargas que se pueden dar en ciertas zonas del cuerpo, como puede ser en las articulaciones. De este modo, se plantea añadir partículas inorgánicas de vidrio bioactivo, en este caso Bioglass, para poder mejorar estas propiedades [8]. Además de mejorar las propiedades mecánicas, el Bioglass es un material bioactivo de clase A, es decir, osteoconductor y osteoinductor, y no sólo forma enlaces con tejidos óseos, sino que también es posible que forme enlaces tanto químicos como biológicos con tejidos blandos [9]. La formación de estos enlaces se basa en que los productos de la disolución del Bioglass tienen un efecto directo en la deposición de una capa de apatita en la superficie del material y en la expresión genética de las células circundantes [10]. Consecuentemente, hay una mejor integración con los tejidos circundantes, prolongando el periodo que puede permanecer implantado sin causar reacciones de rechazo.

En el presente trabajo, se han desarrollado unos hidrogeles de quitosano y PVA con diferentes cantidades de Bioglass, con el objetivo de estudiar su efecto en las

propiedades mecánicas, bioactividad y cinética de liberación de fármaco de los hidrogeles resultantes.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

El poli(vinil alcohol) (PVA, $M_w=13000-23000$ g/mol), la poli(D-glucosamina) (quitosano, CS, bajo peso molecular, 75-85% desacetilación), el bicarbonato sódico (NaHCO_3), el tampón fosfato salino (PBS), y el Levofloxacin ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_4$, $M_w=316,37$ g/mol) han sido suministrados por Sigma Aldrich, al igual que el ácido clorhídrico (HCl). El Bioglass (BG) ha sido adquirido a Novabone, y el agua destilada ha sido suministrada por Iberia Agua.

2.2. Preparación de hidrogeles

Para llevar a cabo la fabricación del hidrogel, se preparó una disolución de 3 ml de 0,5% PVA a 4°C, a la que se añadieron 0,3 ml de NaHCO_3 (1M) bajo agitación magnética. A continuación, el PVA se añadió gota a gota a 3 ml de 2% CS en 0,1M HCl, manteniendo la temperatura de 4°C. Después se añadieron 30 mg de Levofloxacin y, una vez asegurada su disolución, se añadió el Bioglass y se mantuvo en agitación para asegurar una buena dispersión. El Bioglass se añadió en tres concentraciones, preparando así sistemas con 0% v/v BG, 0,5% v/v BG y 1,5% v/v BG. Finalmente se repartió la mezcla en tres moldes de 1,5 ml cada uno, para introducirlo en la estufa a 37°C durante 2 h y formar así el hidrogel.

2.3. Caracterización de los hidrogeles

Para el estudio de bioactividad, los hidrogeles preparados con 0, 0,5 y 1,5% v/v Bioglass se sumergieron en SBF (Simulated Body Fluid) a 37°C. Se extrajeron muestras a diferentes periodos de tiempo durante un mes, y se lavaron y congelaron para liofilizarlas después, obteniendo así las muestras deshidratadas. Para poder observar la capa de apatita formada en la superficie de los hidrogeles, se obtuvieron imágenes de las muestras deshidratadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (HITACHI S-4800), tras cubrir las con una capa de oro de 15nm en una Emitech k550x Sputter Coater a 25 mA. La confirmación de la formación y cristalización de la hidroxiapatita se llevó a cabo mediante difracción de rayos X (XRD). El equipo utilizado fue un difractor automático PHILIPS X'PERT PRO, operando a 40 kV y a 40 mA, en configuración theta-theta, con un ánodo de Cu, y un detector PSD. Los datos se recolectaron de 10 a 50° 2 θ con un tamaño de paso de 0,026° 2 θ y un tiempo de paso de 148,92 s, a 25°C.

La capacidad de hinchamiento se examinó sumergiendo tres muestras liofilizadas de cada sistema en 50 ml de agua destilada a temperatura ambiente. A diferentes periodos de tiempo se extrajeron y pesaron las muestras, hasta observar un punto de estabilidad. Con los datos obtenidos, se calcularon el índice de hinchamiento (SI) y el contenido de agua en equilibrio (EWC) utilizando las siguientes ecuaciones:

$$SI = \frac{\text{Peso de la muestra hinchada}}{\text{Peso de la muestra seca}}$$

$$EWC(\%) = \frac{\text{Peso del agua en el gel}}{\text{Peso total del gel hidratado}} \times 100$$

La capacidad de hidratación de los hidrogeles también nos proporciona información sobre sus propiedades mecánicas, ya que los hidrogeles con un mayor grado de hidratación suelen presentar baja resistencia a la tracción y al desgarro, siendo mecánicamente muy pobres a temperatura ambiente [11].

Para realizar la medición de los fármacos liberados, inicialmente se preparó una curva de calibrado en PBS mediante espectroscopía UV para el Levofloxacin, a una longitud de onda (λ) de 288 nm (rango 0-20 ppm). Posteriormente, tres muestras de cada sistema se sumergieron en 100 ml de PBS a 37°C y se extrajeron muestras de forma regular para determinar la liberación de los fármacos.

La determinación de las propiedades viscoelásticas de geles con y sin Bioglass se realizó en un reómetro AR-G2 (TA Instruments) con geometría plato de aluminio de 40 mm. Se llevaron a cabo barridos de frecuencia en el rango 10-0.01 Hz, a una temperatura de 37°C y una deformación de 1% dentro del rango de viscoelasticidad lineal.

3. Resultados

Las muestras observadas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) fueron las de un hidrogel con 0% v/v Bioglass a 0 días, y otro de 1,5% v/v Bioglass a 28 días. En la figura 1 se pueden ver las imágenes que se obtuvieron en el SEM operando a 10 kV.

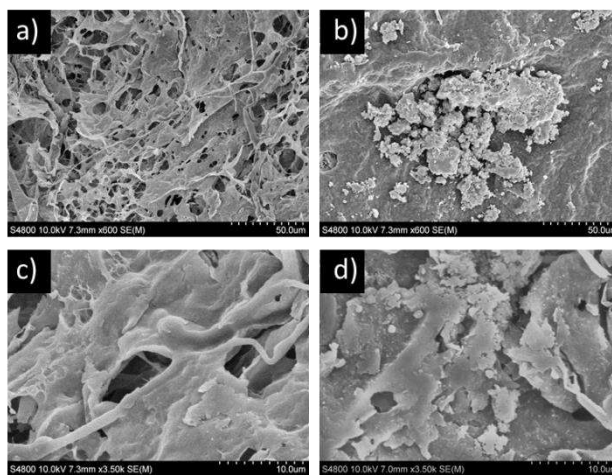


Figura 1. Imágenes SEM de hidrogeles CS/PVA sin BG a día 0 a a) x600 aumentos y c) x3500 aumentos, y de 1,5%v/v BG a 28 días a b) x600 aumentos y d) x3500 aumentos

En estas imágenes se aprecia claramente la diferencia entre el hidrogel con 1,5% v/v Bioglass a 28 días (derecha), y el hidrogel sin Bioglass a día 0 (izquierda). Se puede ver cómo se ha formado una capa en la superficie, gracias a su forma de coliflor, se deduce que se trata de la capa de apatita formada gracias al vidrio bioactivo añadido.

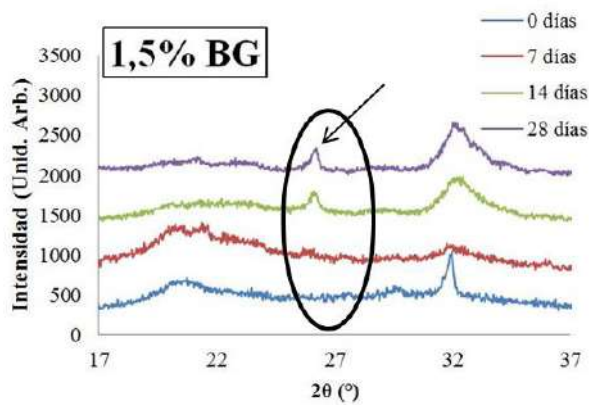


Figura 2. Gráfico XRD de hidrogeles CS/PVA con 1,5%v/v BG tras estar sumergidos en SBF, a diferentes tiempos

Mediante difracción de rayos X (XRD), se han podido observar los cristales formados en los hidrogeles a lo largo de diferentes periodos hasta llegar a un mes. Para poder deducir si ha habido formación de hidroxapatita o no, se ha prestado especial atención a los picos característicos de estos cristales. Estos picos principales se encuentran en un ángulo (2θ) de $\sim 26^\circ$ y de $\sim 32^\circ$. En los hidrogeles sin ningún Bioglass añadido, se ha podido ver que hay impurezas de calcio (picos en 27° y 32°), y no se ha visto presencia de hidroxapatita. Las impurezas se pueden deber a un lavado insuficiente de los geles tras haber estado sumergidos en SBF. En los sistemas de 0,5%v/v y 1,5%v/v BG se ha podido apreciar un cambio en los picos con el transcurso de los días, tal como se ve en la figura 2 para el caso de 1,5%v/v BG, pudiendo así afirmar que hay un aumento de hidroxapatita progresivo en el tiempo. La formación de la apatita se produce por dos mecanismos principales [12]: por una parte, una extracción preferencial de iones de Na^+ y/o Ca^{2+} fuera del vidrio por intercambio con protones de la solución controlada por difusión, y por otra parte, la hidratación y disolución de la red de sílice, la cual es bastante lenta a pH fisiológico. La degradación de la red de sílice del Bioglass resulta en la formación de grupos $\equiv\text{Si-OH}$ en la superficie del hidrogel, y en la liberación de Si(OH)_4 soluble en la solución de SBF. Estos grupos $\equiv\text{Si-OH}$ proporcionan ubicaciones favorables para la nucleación de la apatita.

	0%BG	0,5%BG	1,5%BG
SI	34	26	18

Tabla 1. Índice de hinchamiento

El hinchamiento que han presentado todos los sistemas ha sido rápido, llegando al equilibrio tras 20 minutos sumergidos en agua. Como se puede apreciar en la figura 3, el contenido de agua en equilibrio ha resultado elevado para todas las muestras, estando todas por encima del 90%. Se ha visto que a mayor concentración de Bioglass, el hinchamiento y el contenido de agua en equilibrio son menores.

Este comportamiento se puede deber a que el BG ocupe los huecos vacíos en la matriz polimérica quitando espacio al agua, o a las fuerzas retráctiles del hidrogel, causadas por los iones liberados por las partículas de vidrio bioactivo. Cabe mencionar que visualmente no se ha observado un aumento de volumen significativo en ninguna de las muestras.

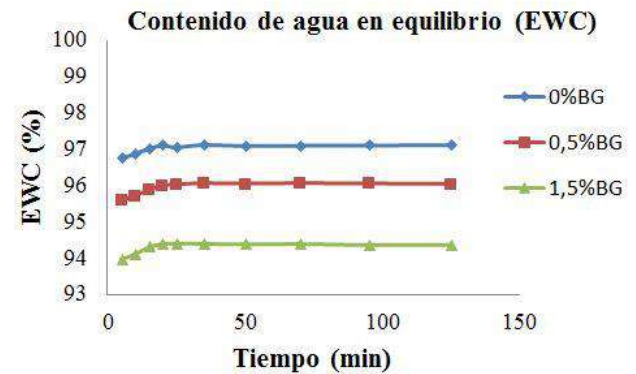


Figura 3. Contenido de agua en equilibrio en el tiempo

En el estudio de liberación se ha visto que se ha liberado todo o casi todo el fármaco antes de las 3 horas, tal como se ve en la figura 4. No se han apreciado diferencias entre los tres sistemas, y aunque el porcentaje de fármaco liberado del sistema sin BG sea ligeramente inferior, no se aprecia ninguna influencia del vidrio bioactivo añadido.

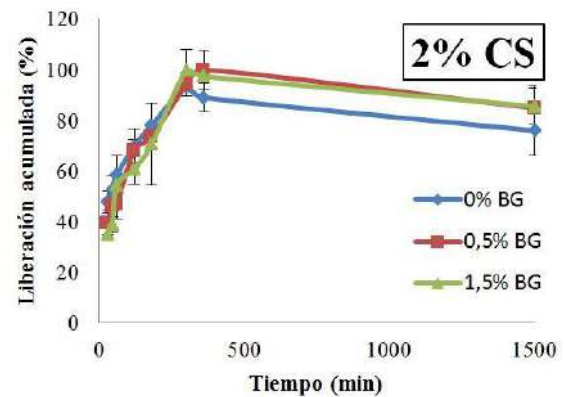


Figura 4. Liberación acumulada en el tiempo para hidrogeles cargados con 0, 0,5 y 1,5%v/v de BG

Un comportamiento típico de los hidrogeles en los barridos oscilatorios de frecuencia es que G' es mucho mayor que G'' en todo el rango de frecuencias, siendo además independientes sus valores con la frecuencia [13].

Ambas características se observan en la figura 5 tanto para la muestra con 0%v/v BG como para la muestra con 1,5%v/v BG. Los valores del módulo elástico obtenidos para ambas muestras no varían dentro del error experimental, siendo los valores determinados para G' a 1 Hz 129 ± 9 y 149 ± 11 Pa para la muestra de 0%v/v BG y 1,5%v/v BG respectivamente. El hecho de que no se vea un aumento del módulo elástico tal y como se esperaría de las medidas de hinchamiento y de bibliografía de geles con BG incorporado [12] puede deberse a una dispersión no homogénea del Bioglass.

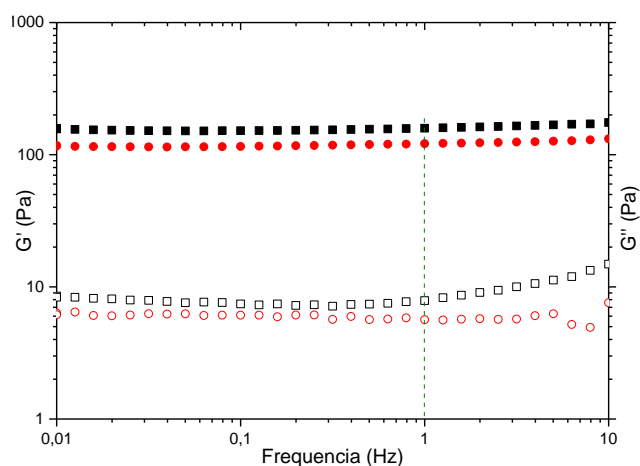


Figura 5. Módulo elástico (símbolos cerrados) y módulo de pérdidas (símbolos abiertos) en función de la frecuencia para hidrogeles cargados con 0%v/v (●) y 1,5%v/v (■) BG

4. Conclusiones

En el presente trabajo se han fabricado hidrogeles de CS/PVA reforzados con partículas inorgánicas de vidrio bioactivo, con el fin de mejorar sus propiedades mecánicas y bioactividad. Tras la satisfactoria formación de dichos hidrogeles, se ha comprobado que, a primera vista, los geles con partículas añadidas muestran una estructura más robusta, tal como se ha podido comprobar con la prueba de hinchamiento, aunque no haya sido posible demostrarlo cuantitativamente mediante el estudio reológico. Por otra parte, se ha comprobado su bioactividad tras haberlos sumergido en SBF durante un mes a temperatura corporal, al poder apreciar visualmente una capa de apatita en su superficie mediante SEM, para después confirmarla por XRD. Siendo estos hidrogeles utilizados también para liberación controlada de fármaco, se ha podido interpretar que la presencia de las partículas de Bioglass no influye en la cinética de la liberación. En general, la adición del vidrio bioactivo ha ayudado a mejorar las propiedades del hidrogel de CS/PVA, no obstante, la desventaja más importante ha sido la dificultad para fabricar los hidrogeles a medida que la proporción de BG aumentaba. Al introducir tanta cantidad de vidrio bioactivo, se empiezan a formar aglomerados, por lo que es complicado conseguir una dispersión homogénea. Aunque se hayan presentado algunos problemas, los resultados obtenidos muestran que la incorporación de refuerzos de vidrio bioactivo podría ayudar a buscar nuevas aplicaciones para este tipo de hidrogeles. Actualmente también se están llevando a cabo estudios con diferentes concentraciones de CS en los hidrogeles. De este modo, también se podrán regular las propiedades no solo variando las cantidades de Bioglass, sino también las de quitosano.

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. También agradecen a Emilio

Madrid, del Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC, por la realización de las medidas de reología.

Referencias

- [1] Hoare TT, Kohane DS. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, vol 49, 2008, pp 1993-2007.
- [2] Barbucci R. Hydrogels: biological properties and applications. Milan: Springer-Verlag Italia, 2009.
- [3] Escobar JL, García DM, Zaldivar D, Katime I. Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol 3(3), 2002.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Sáez V, Hernández E, Sanz L. Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol 4(1), 2003.
- [8] Anitha A, Sowmya S, Kumar PTS, Deepthy S, Chennazhi KP, Ehrlich H, Tsurkan M, Jayakumar R. Chitin and chitosan in selected biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, vol 39, 2014, pp 1644-1667.
- [9] Hench LL. The story of Bioglass. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol 17, 2006, pp 967-978.
- [10] Larrañaga A, Aldazabal P, Martín FJ, Sarasua JR. Hydrolytic degradation and bioactivity of lactide and caprolactone based sponge-like scaffolds loaded with bioactive glass particles. *Polymer Degradation and Stability*, vol 11, 2014, pp 121-128.
- [11] Anseth KS, Bowman CN, Brannon-Peppas L. Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, vol 17, 1996, pp 1647-1657.
- [12] Killion JA, Kehoe S, Geever LM, Devine DM, Sheehan E, Boyd D, Higginbotham CL. Hydrogel/bioactive glass composites for bone regeneration applications: Synthesis and characterization. *Materials Science and Engineering C*, vol 33, 2013, pp 4203-4212.
- [13] Lejardi A, Hernández R, Criado M, Santos JI, Etxeberria A, Sarasua JR, Mijangos C. Novel hydrogels of chitosan and poly(vinyl alcohol)-g-glycolic acid copolymer with enhanced rheological properties. *Carbohydrate Polymers*, vol 103, 2014, pp 267-273.

Diseño y desarrollo de un sistema para la detección automática de sangre en imágenes de cápsula endoscópica

P. Pons Suñer¹, R. Alexander Noorda¹, V. Naranjo¹, A. Nevárez Heredia², V. Pons Beltrán²

¹ Grupo de investigación CVBLab, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, pedropons96@gmail.com, vnaranjo@dcom.upv.es, reinoo@upv.es

² Unidad de Endoscopia Digestiva y el Grupo de Investigación de Endoscopia Digestiva, Hospital Universitari i Politènic La Fe, Valencia, España, nevarezja78@gmail.com, pons_vicbel@gva.es

Resumen

La endoscopia por cápsula inalámbrica permite observar el tracto gastrointestinal completo de forma sencilla y no invasiva. Sin embargo, se genera una gran cantidad de imágenes por examen que los médicos tardan aproximadamente 2 horas en analizar. Esto no solo supone un elevado coste, sino que el diagnóstico puede ser erróneo debido a la fatiga y a la naturaleza variable de las lesiones, que exige una alta concentración.

En el presente trabajo se diseña y desarrolla un sistema capaz de detectar automáticamente aquellas imágenes que contienen sangre, siguiendo dos enfoques distintos. El primero consiste en escoger y extraer ciertas características de color de las imágenes con las que entrenar modelos de aprendizaje automático clásico (SVM y Random Forest) que permitan distinguir entre tejido sano y sangre. Además, se implementa la técnica de segmentación "waterpixels" para tratar de mejorar la clasificación. El segundo método consiste en utilizar técnicas de aprendizaje profundo (redes neuronales convolucionales), capaces de extraer las características relevantes de la imagen por sí solas. La configuración que ha obtenido los mejores resultados (95,7% de sensibilidad y 92,3% de especificidad) ha sido un modelo Random Forest entrenado con los histogramas de los canales del espacio de color HSV.

1. Motivación y objetivos

1.1. Introducción

Actualmente, el personal clínico dispone de múltiples técnicas e instrumentos que permiten diagnosticar las enfermedades que afectan al tracto gastrointestinal (tracto GI) humano. Las técnicas convencionales como la gastroscopia y la colonoscopia permiten acceder tanto con finalidad diagnóstica como terapéutica a distintos tramos del tracto GI. Sin embargo, comparten una misma limitación: no permiten la observación del intestino delgado completo, vital para el diagnóstico de numerosas patologías. Este tramo, de mayor longitud, es tan solo accesible por medio de otras técnicas más invasivas como la enteroscopia por empuje o la endoscopia intraoperatoria.

La endoscopia por cápsula endoscópica (en inglés, *wireless capsule endoscopy* o WCE), introducida en el año 2000 por la empresa Given Imaging, permite observar el tracto GI completo de forma sencilla y no invasiva, aunque sin capacidad terapéutica. El paciente tan solo ha de ingerir una cápsula endoscópica (Figura 1), que va avanzando por el tubo digestivo gracias a los movimientos peristálticos. A medida que avanza, la cámara instalada en uno de sus

extremos va tomando entre dos y tres imágenes por segundo del interior del tubo, iluminado con una linterna.



Figura 1. Cápsula endoscópica PillCamTMSB3

Uno de los principales problemas de la WCE reside en la gran cantidad de imágenes que se generan por examen (más de 150.000). Aunque el *software* proporcionado por el fabricante, RAPID Reader, permite visualizarlas en forma de vídeo a velocidad rápida, los médicos experimentados tardan aproximadamente entre 1 y 2 horas en analizar el vídeo completo. Esto no solo supone un elevado coste, sino que además produce una importante fatiga en el médico, lo cual aumenta el riesgo de realizar un diagnóstico erróneo. Además, este riesgo se ve agravado por la naturaleza de las lesiones, de tamaño variable, distribuidas aleatoriamente por las imágenes y en ocasiones visibles en una o muy pocas imágenes.

En este trabajo se centra la atención en la detección automática de sangre en imágenes de WCE, ya que su presencia en el intestino es síntoma de numerosas patologías del tracto GI, como pueden ser pólipos, tumores, úlceras o la enfermedad de Crohn. Así pues, la detección de sangre suele considerarse un paso prioritario preliminar a la búsqueda de otras anomalías más específicas.

Aunque RAPID Reader dispone de una herramienta de detección automática de sangre en las imágenes de WCE, llamada SBI, varios estudios afirman que este sistema presenta tanto una baja sensibilidad como una baja especificidad [1-3], por lo que no puede ser utilizado como una herramienta fiable con la que tomar un diagnóstico.

1.2. Revisión bibliográfica

Son muchos los esfuerzos realizados para tratar de desarrollar sistemas que permitan detectar de forma automática las anomalías en el tracto GI, siguiendo enfoques muy diversos. En cuanto al tipo de características de las imágenes que se utilizan, algunos autores optan por utilizar la información del color junto con información de

las texturas, aunque aquellas relacionadas con el color demuestran ser mucho más discriminativas [4]. La mayoría de los autores explora distintos espacios de color a fin de encontrar las características que mejor separen la sangre del tejido sano. Aunque la mayoría utiliza, entre otras opciones, el espacio RGB, su uso puede resultar problemático debido a que la iluminación en las imágenes de WCE no es uniforme, pues la linterna ilumina con mayor intensidad la zona del tejido más cercana, afectando drásticamente a los tres canales del espacio RGB [5]. Por otro lado, el espacio HSV constituye una alternativa más popular, pues este problema tan solo afecta al canal V.

Se encuentran también distintos enfoques en cuanto a la estrategia de procesamiento de las imágenes. Los métodos de análisis a nivel de pixel son los más sencillos y rápidos, pero ignoran la información espacial, proporcionando a menudo resultados poco satisfactorios e incoherentes. Los métodos a nivel de imagen aprovechan esta información, pero pierden la capacidad de detectar las lesiones más pequeñas, cuyas características quedan diluidas en las del resto de la imagen. Por último, los métodos a nivel de bloque son un paso intermedio entre los dos anteriores, donde los bloques más grandes incorporan más información espacial mientras que los más pequeños permiten obtener una mayor sensibilidad [6].

1.3. Objetivos

En el presente trabajo se trata de desarrollar un sistema de detección automática de sangre que permita reducir el tiempo de revisión de las imágenes de WCE comprometiendo en la menor medida posible la calidad del diagnóstico, siguiendo para ello dos enfoques distintos. El primero consiste en extraer características que permitan distinguir la sangre del tejido sano y entrenar con ellas algoritmos de aprendizaje automático. El segundo enfoque consiste en utilizar técnicas de aprendizaje profundo, concretamente redes neuronales convolucionales, capaces de extraer las características necesarias de las imágenes por sí solas. Por último, se compararán los resultados obtenidos con cada procedimiento.

2. Materiales

La base de datos disponible consiste en 75 imágenes de WCE obtenidas utilizando la cápsula endoscópica PillCamTMSB3, proporcionadas por la Unidad de Endoscopia Digestiva y el Grupo de Investigación de Endoscopia Digestiva del Hospital Universitari i Politènic La Fe (Valencia). De estas 75 imágenes, 40 contienen sangre y las 35 restantes son totalmente sanas.

3. Métodos

3.1. Preparación de la base de datos

En primer lugar, se genera manualmente el *groundtruth* de las imágenes, que es validado por un experto (Figura 2).



Figura 2. Ejemplos de *groundtruth* de las imágenes.

El siguiente paso consiste en extraer bloques cuadrados de distintos tamaños (32x32, 64x64 y 96x96 píxeles) de cada una de las imágenes mediante una ventana deslizante con un solapamiento del 50% tanto en la dirección vertical como en la horizontal. El etiquetado de los bloques se realiza al mismo tiempo, considerándose como sangre aquellos cuya área correspondiente en el *groundtruth* está conformada en más de un 10% por sangre.

Posteriormente, para garantizar la capacidad de generalización de los modelos se reparten los bloques en conjuntos de entrenamiento y de test, garantizando que todos los bloques de una misma imagen pertenezcan al mismo conjunto. Con el fin de reducir la dependencia de los resultados de la división realizada, se utiliza la técnica conocida como *nested cross-validation* [7]. En resumen, esta técnica consiste en entrenar varios modelos, cada uno con su correspondiente conjunto de test, asegurando que cada imagen participa una vez en un conjunto de test. Los parámetros de cada modelo son optimizados mediante una validación cruzada de 10 iteraciones en un bucle interno. Al final, se promedian los resultados sobre test de cada modelo para obtener un valor más general. Cabe destacar también que los grupos de entrenamiento son balanceados mediante la eliminación de bloques de la clase mayoritaria.

3.2. Selección de características

En primer lugar, se consideran las características relacionadas con las texturas. Sin embargo, guiándose por la literatura y tras comprobar que los histogramas LBP y HOG son prácticamente idénticos en ambas clases, se decide utilizar únicamente características de color. Concretamente, se utilizan los espacios de color RGB y HSV. Además, con el fin de corregir el problema que suponen las inhomogeneidades en la iluminación, se transforman las imágenes originales al espacio HSV, se aplica un filtro homomórfico sobre el canal V (que contiene toda la información de la iluminación) y se devuelven las imágenes al espacio RGB (Figura 3). Se entrenarán distintos modelos con cada uno de los siguientes conjuntos de características:

- Histogramas de los canales R, G y B.
- Histogramas de los canales H, S y V.
- Histogramas de los canales H y S.
- Histogramas de los canales R, G y B tras aplicar un filtro homomórfico sobre el canal V en HSV.

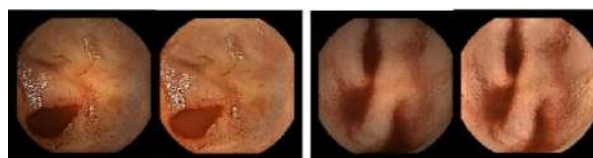


Figura 3. Ejemplos de imágenes de WCE filtradas.

3.3. Selección y entrenamiento de los algoritmos

Tras estudiar varios de los algoritmos de aprendizaje automático clásico más utilizados actualmente, se escogen los algoritmos Support Vector Machine (SVM) [8] y Random Forest [9], debido a su gran poder predictor, su relativa sencillez y su resistencia al sobreentrenamiento.

En el caso de los modelos SVM se decide comparar el rendimiento logrado con un kernel lineal, de gran sencillez, y con un kernel RBF, cuyo rendimiento suele sobrepasar al del resto y es también sencillo de implementar.

En cuanto a los modelos Random Forest, se estima el número óptimo de árboles observando que la curva del error de clasificación (concretamente, el *out-of-bag error*) se mantiene prácticamente constante a partir de 80 árboles.

3.4. Implementación del método waterpixels

Hasta ahora, el enfoque seguido se ha basado en dividir las imágenes en bloques cuadrados y extraer características de ellos. Sin embargo, la ventana deslizante utilizada divide la imagen en bloques sin tener en cuenta su contenido, mezclando ambas clases. Con el fin de superar este problema, se utiliza la técnica de segmentación en superpíxeles, regiones conexas cuyos píxeles comparten características similares y cuyas fronteras tienden a ajustarse a los contornos de los objetos de la imagen. Concretamente, se utiliza una variante de los métodos de generación de superpíxeles basada en la técnica *watershed*, denominada *waterpixels* [10], que ha demostrado proporcionar mejores resultados que otros métodos [9]. Uno de los pasos de la técnica *waterpixels* que presente la mayor oportunidad de mejora es la elección del marcador a partir del cual se genera cada uno de los waterpíxeles. En este trabajo se seleccionan como marcadores los puntos de mínimo gradiente. En caso de existir varios mínimos dentro de una misma celda (área reservada inicialmente para cada waterpíxel), se selecciona aquel que presenta el máximo coeficiente de extinción de superficie [11].

3.5. Entrenamiento de las redes neuronales convolucionales

Por último, se aborda el enfoque basado en las técnicas de aprendizaje profundo, capaces de extraer las características necesarias de las imágenes por sí solas. Se entrenan, de la misma forma que en los casos anteriores, cinco redes neuronales convolucionales (CNN) para cada tamaño de bloque. En este caso, el subconjunto de validación, constituido por el 20% del conjunto de entrenamiento, será fijo en el entrenamiento de cada modelo. Las CNN son entrenadas a partir de otra red pre-entrenada con cientos de miles de ejemplos, la red VGG19 [12], mediante el proceso conocido como “*fine tuning*”. Esta técnica consiste en bloquear las primeras capas de la red ya entrenada, capaces de extraer los rasgos más básicos de las imágenes, y permitir únicamente cambios en los pesos de las últimas capas para adecuar la red al nuevo problema.

4. Resultados

Se presentan en este apartado los resultados obtenidos por los distintos modelos entrenados con cada tamaño de bloque, además de aquellos entrenados con superpíxeles.

En cuanto a los modelos SVM, se muestran únicamente los resultados obtenidos con el kernel RBF en la Tabla 1, pues ha demostrado ser muy superior al kernel lineal. Por otro lado, se muestran en la Tabla 2 los resultados obtenidos con los modelos Random Forest y en la Tabla 3 aquellos correspondientes a las redes neuronales convolucionales.

Regiones procesadas	Características	Exactitud	Sens.	Espec.	AUC
Bloq. 32x32	RGB	0,9221	0,9137	0,9279	0,9685
	HSV	0,9051	0,9090	0,9030	0,9589
	HS	0,9175	0,9260	0,9128	0,9718
	RGB filtrado	0,9236	0,9181	0,9274	0,9709
Bloq. 64x64	RGB	0,9045	0,8587	0,9353	0,9566
	HSV	0,8968	0,8931	0,8982	0,9571
	HS	0,9132	0,9162	0,9104	0,9694
	RGB filtrado	0,9148	0,8880	0,9326	0,9689
Bloq. 96x96	RGB	0,8497	0,7954	0,8906	0,9303
	HSV	0,8817	0,9026	0,8658	0,9549
	HS	0,8957	0,9034	0,8894	0,9637
	RGB filtrado	0,8991	0,8524	0,9339	0,9640
Superpíxeles	RGB	0,9257	0,9485	0,9132	0,9752
	HSV	0,9086	0,9526	0,8851	0,9734
	HS	0,9075	0,9479	0,8845	0,9668
	RGB filtrado	0,9325	0,9500	0,9258	0,9769

Tabla 1. Resultados promediados obtenidos por los modelos SVM con un kernel RBF sobre los conjuntos de test.

Regiones procesadas	Características	Exactitud	Sens.	Espec.	AUC
Bloq. 32x32	RGB	0,9266	0,9206	0,9313	0,9756
	HSV	0,9252	0,9363	0,9198	0,9806
	HS	0,9238	0,9372	0,9169	0,9802
	RGB corregido	0,9292	0,9342	0,9275	0,9787
Bloq. 64x64	RGB	0,9276	0,9189	0,9343	0,9769
	HSV	0,9318	0,9483	0,9210	0,9828
	HS	0,9316	0,9443	0,9231	0,9822
	RGB corregido	0,9365	0,9357	0,9386	0,9823
Bloq. 96x96	RGB	0,9273	0,9225	0,9317	0,9760
	HSV	0,9378	0,9568	0,9233	0,9844
	HS	0,9357	0,9549	0,9209	0,9841
	RGB corregido	0,9389	0,9364	0,9424	0,9849
Superpíxeles	RGB	0,9058	0,9448	0,8835	0,9701
	HSV	0,8987	0,9580	0,8672	0,9781
	HS	0,8966	0,9612	0,8621	0,9777
	RGB corregido	0,9073	0,9548	0,8873	0,9770

Tabla 2. Resultados promediados obtenidos utilizando los modelos Random Forest sobre los conjuntos de test.

Bloques	Exactitud	Sensibilidad	Especificidad	AUC
32x32 píxeles	0,9496	0,9390	0,9560	0,9901
64x64 píxeles	0,9494	0,9208	0,9688	0,9917
96x96 píxeles	0,8943	0,7545	0,9838	0,8920

Tabla 3. Resultados sobre los conjuntos de test promediados obtenidos utilizando las redes neuronales convolucionales.

5. Discusión de los resultados

Debido a la naturaleza del problema abordado, donde el error de clasificar como sana una imagen patológica tiene consecuencias más graves que el error contrario, que tan solo alargaría el tiempo de revisión, se le da una mayor importancia a la sensibilidad que a la especificidad.

De los resultados se extrae que, en general, los histogramas de los canales RGB extraídos directamente de la imagen original parecen proporcionar los peores resultados. Sin embargo, al extraerlos tras aplicar un filtro homomórfico los resultados se aproximan a los obtenidos con el espacio HSV. También se observa que los resultados de los modelos entrenados con los tres canales del espacio HSV son muy similares a los obtenidos al omitir el canal V. Esto podría deberse a que, aunque el canal V contiene

información útil, también incluye el problema de las diferencias en la iluminación, por lo que en ocasiones su uso podría llegar a empeorar el modelo.

En cuanto a los diferentes tamaños de bloque, se comprueba que generalmente el uso de bloques más grandes afecta negativamente a la sensibilidad. Sin embargo, los modelos Random Forest parecen ser más insensibles al tamaño de bloque, pues tan solo se aprecian cambios del orden de las centésimas, probablemente debidos a la distinta selección de imágenes en cada caso.

En cuanto al uso de la técnica *waterpixels*, se comprueba que mejora los resultados en el caso de los SVM, especialmente en términos de sensibilidad. Sin embargo, en Random Forest, los resultados obtenidos al utilizar bloques son ligeramente superiores.

En la Figura 4, donde se comparan los resultados de los mejores algoritmos de cada tipo, puede observarse que, aunque globalmente las CNN parecen mejores clasificadores, ofrecen la menor sensibilidad.

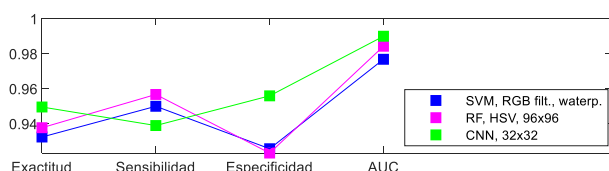


Figura 4. Comparación de los mejores modelos de cada tipo.

La Figura 5 muestra los resultados obtenidos con algunas imágenes de test, que no han participado en el proceso de aprendizaje. Cada imagen se divide en bloques (fila inferior) y *waterpíxeles* (fila superior), que se clasifican con los modelos correspondientes y se combinan para obtener una clasificación a nivel de píxel. En la misma figura puede comprobarse que, al utilizar *waterpixels*, la región marcada como sangre es mucho más precisa.

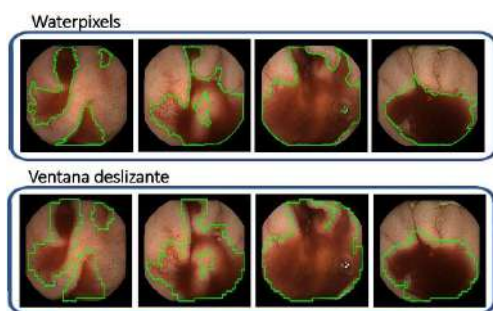


Figura 5. Comparación de las regiones clasificadas como sangre utilizando *waterpixels* y bloques cuadrados.

Una de las mayores limitaciones encontradas durante la realización del trabajo ha sido la falta de disponibilidad de una mayor base de datos. La segmentación a nivel de píxel realizada con *waterpixels* podría aprovecharse como herramienta de etiquetado supervisado con la que generar un mayor *groundtruth* para entrenar y probar los modelos.

6. Conclusiones

Se han entrenado modelos SVM, Random Forest y redes neuronales convolucionales capaces de detectar la sangre automáticamente en las imágenes de WCE, con el fin de

desarrollar una herramienta que sirva de apoyo para el médico. Las características de color cuyo uso ha proporcionado los mejores resultados son los histogramas de los canales H y S del espacio de color HSV y los de los tres canales del espacio RGB tras haber aplicado un filtro homomórfico que corrija las variaciones en la iluminación.

El modelo que ha obtenido la mayor sensibilidad es un Random Forest entrenado a partir del espacio HSV, con un 95,68% de sensibilidad y un 92,33% de especificidad (sobre las imágenes de test). Por otro lado, los resultados al utilizar *waterpixels* en la clasificación de muestras de test son más precisos a nivel de píxel, siendo el mejor modelo obtenido que utiliza esta técnica un SVM entrenado a partir del espacio RGB tras haber aplicado el filtro corrector, con un 95% de sensibilidad y un 92,58% de especificidad.

Referencias

- [1] Signorelli, C y col. (2005). "Sensitivity and specificity of the suspected blood identification system in video capsule endoscopy". En: *Endoscopy* 37.12, págs. 1170-1173 (vid. pág. 8).
- [2] Buscaglia, Jonathan M y col. (2008). "Performance characteristics of the suspected blood indicator feature in capsule endoscopy according to indication for study". En: *Clinical gastroenterology and hepatology* 6.3, págs. 298-301 (vid. pág. 8).
- [3] Francis, RD y col. (2004). "Sensitivity and specificity of the red blood identification (RBIS) in video capsule endoscopy". En: *3Rd, Int. Conf. on Capsule Endoscopy* (vid. pág. 8).
- [4] Li, Baopu y Max Q-H Meng (2009a). "Computer-aided detection of bleeding regions for capsule endoscopy images". En: *IEEE Transactions on biomedical engineering* 56.4, págs. 1032-1039 (vid. pág. 9).
- [5] Berens, Jeff, Graham D Finlayson y Guoping Qiu (2000). "Image indexing using compressed color histograms". En: *IEE Proceedings-Vision, Image and Signal Processing* 147.4, págs. 349-355 (vid. pág. 10).
- [6] Novozámsk, Adam y col. (2016). "Automatic blood detection in capsule endoscopy video". En: *Journal of biomedical optics* 21.12, pág. 126007 (vid. pág. 11).
- [7] Varma, Sudhir y Richard Simon (2006). "Bias in error estimation when using cross-validation for model selection". En: *BMC bioinformatics* 7.1, pág. 91 (vid. pág. 20).
- [8] Cortes, Corinna y Vladimir Vapnik (1995). "Support-vector networks". En: *Machine learning* 20.3, págs. 273-297 (vid. pág. 34).
- [9] Breiman, Leo (2001). "Random forests". En: *Machine learning* 45.1, págs. 5-32 (vid. pág. 38).
- [10] Machairas, Vaia y col. (2015). "Waterpixels". En: *IEEE Transactions on Image Processing* 24.11, págs. 3707-3716 (vid. págs. 28, 31).
- [11] Vachier, Corinne y Fernand Meyer (1995). "Extinction value: a new measurement of persistence". En: *IEEE Workshop on nonlinear signal and image processing*. Vol. 1, págs. 254-257 (vid. pág. 31).
- [12] Simonyan, Karen y Andrew Zisserman (2014). "Very Deep convolutional networks for large-scale image recognition". En: *arXiv preprint arXiv:1409.1556* (vid. pág. 46).

Diseño y estudio de un escáner PET con cobertura 4π

D. Perez-Benito¹, R. Chil¹, A. Vasile², C. Cretu², J.M. Udias^{3,4}, M. Desco^{1,5,6,7}, J.J. Vaquero^{1,5}

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacia, Universidad Carlos III, Madrid, España, [\[david.perez.benito@uc3m.es\]](mailto:david.perez.benito@uc3m.es)

² Faculty of Medical Engineering, "Politehnica" University, Bucharest, Rumanía

³ Departamento de Física Atómica, Universidad Complutense CEI Moncloa, Madrid, Madrid, España

⁴ Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Madrid, España

⁵ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

⁶ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, España

⁷ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

Los tomógrafos de emisión de positrones (PET) más habituales están configurados en forma de anillos que rodean la sujeto bajo estudio. El principal problema de esta distribución es la baja sensibilidad ya que el ángulo sólido cubierto por los anillos es limitado. En ese sentido la geometría óptima para un escáner PET sería una esfera con el sujeto de estudio situado en el centro de esta. Sin embargo, el estado de la técnica de los cristales de centello y los detectores de rayos gamma no facilita esta distribución. En este trabajo proponemos un escáner PET con cobertura de 4π estereorradianes como prueba de concepto para su uso en imagen preclínica. Como aproximación a la geometría esférica ideal, se ha diseñado un escáner en forma de icosaedro. Además, también se presentan los nuevos detectores hexagonales y el cristal de centello hexagonal grabado mediante la técnica SSLE (Sub-Surface Laser Engraving) con los que se construye el icosaedro. Los datos preliminares relativos a las prestaciones del escáner se basan en simulaciones, mientras que los resultados de la caracterización del detector hexagonal provienen de la evaluación mediante el uso una fuente puntual de ^{22}Na y un digitalizador de onda completa para los pulsos generados por el detector. Los resultados muestran un comportamiento de los nuevos detectores similar a los convencionales cuadrados, pero una con la mejora en sensibilidad y resolución del conjunto cuando se ensamblan en el icosaedro.

1. Motivación

Los detectores en Tomografía por Emisión de positrones (PET) se disponen comúnmente en forma de anillos alrededor del paciente. Esta distribución sufre de baja sensibilidad, siendo ésta la medida de la capacidad de detección de rayos gamma para una fuente. A su vez, la sensibilidad está directamente relacionada con el nivel de señal-ruido de la imagen reconstruida para un tiempo de adquisición y una actividad determinadas. La sensibilidad depende principalmente de la geometría y la eficiencia intrínseca del detector, el ancho de ventana de energía y el tiempo muerto del sistema. La eficiencia geométrica está definida por el ángulo sólido de la proyección de la fuente sobre los detectores de la fuente. Por lo tanto, depende de la distancia entre la fuente y el detector, el número y tamaño de los detectores y su distribución espacial. La geometría ideal, la de mayor ángulo sólido, es una distribución esférica donde además los detectores estén tan próximos como sea posible al sujeto para minimizar el número de estos. Este problema ha sido estudiado desde los comienzos de las técnicas PET [1], pero su construcción no fue posible por limitaciones

técnicas. Incluso entonces fueron propuestos métodos de reconstrucción para escáneres esféricos [2, 3]. Recientemente ha habido un creciente interés en el estudio de geometrías compactas para escáneres de cerebro [4, 5].

La tecnología actual de detección de rayos γ y basadas en cristales de centelleo y fotodetectores no facilitan el diseño de geometrías esféricas. Uno de los poliedros más cercanos a la geometría esférica y con un diseño realizable desde el punto de vista mecánico es un icosaedro truncado. En este trabajo presentamos el diseño de un escáner preclínico con forma de icosaedro como prueba de concepto para su uso como escáner cerebral. Para maximizar la sensibilidad, se han diseñado nuevos fotodetectores y centelladores hexagonales para cubrir sus veinte caras. Esta topología compacta permite detectar eventos con una cobertura de 4π estereorradianes, lo cual resulta en un incremento significativo de la sensibilidad y una mejor resolución espacial. Esto se traduce en una doble ventaja: primero, permitiría una reducción de la dosis de radiactividad inyectada al sujeto (o el tiempo de adquisición de imagen para igual dosis) sin comprometer a calidad de imagen, y segundo, presenta el potencial de mejorar la calidad de la imagen en el uso de radio trazadores de corta vida media como ^{15}O .

2. Métodos

El diseño propuesto es un icosaedro con cobertura de 4π estereorradianes. Este sólido es elegido sobre otras figuras platónicas como tetraedro o dodecaedro, el domo o el icosaedro truncado u otros sólidos arquimedianos debido a las siguientes características geométricas: la morfología similar de las caras facilita la disposición de los detectores y los algoritmos de reconstrucción; el hecho de que las caras sean planas hace que se puedan colocar los detectores y centelladores en una misma superficie lo que facilita los mecanismos de apertura necesarios; la disposición simétrica y equidistante de los detectores proporciona una sensibilidad homogénea; el ángulo entre la normal de la cara y las líneas de respuesta (LOR) se reduce, aumentando así la posibilidad de detención de los fotones; las caras opuestas diametrales a través del centro muestran una proporción de 6/9, lo cual es favorable para la detección de eventos a través del centro del escáner.

Las aperturas pentagonales en los vértices truncados sirven para colocar varios sistemas de monitorización tales como cámaras o micro fuentes de rayos X usadas para obtener imágenes anatómicas y con ello el mapa de atenuación. En estudios con animales pequeños, este espacio se usa para adaptarse a los sistemas de soporte vital necesarios. En los estudios cerebrales la parte inferior del icosaedro se quita para hacer espacio al cuello del paciente. Para aliviar la posible sensación de claustrofobia se ha pensado en el uso de gafas de realidad virtual, Figura 1. Las facetas del escáner están fijadas a unos brazos que se mueven con unos actuadores mecánicos gracias a unas bisagras en la base del escáner. En el caso de estudios con de pequeños animales, éstos se dispondrán sobre un soporte sujeto a la base.

Las veinte facetas del icosaedro tienen las siguientes dimensiones físicas: caras de 155 mm de lado; perímetro del pentágono definido por los vértices truncados: 775 mm; esfera de diámetro inscrito: 234 mm. Esta disposición da como resultado una cobertura del 81% del ángulo sólido 4π completo. El grosor del centellador es de 10 mm, lo cual supone un compromiso entre la capacidad de detención de los fotones y la minimización del error de paralaje que distorsiona la calidad de la imagen para eventos detectados lejos del centro del escáner. El tamaño de esta prueba de concepto se basó en tres estudios antropométricos de cabeza de adulto [6, 7, 8]. De estos estudios se infiere que el percentil 95 del perímetro de la circunferencia de la cabeza es de 604 mm y la longitud es de 210 mm. Gracias al diseño del escáner, su tamaño puede ser ampliado agregando filas sucesivas de centelladores en cada cara. Con 15, 21 o 28 cristales por cada cara, el diámetro de la esfera inscrita resulta en 29.2 cm, 35.1 cm o 41.0 cm.

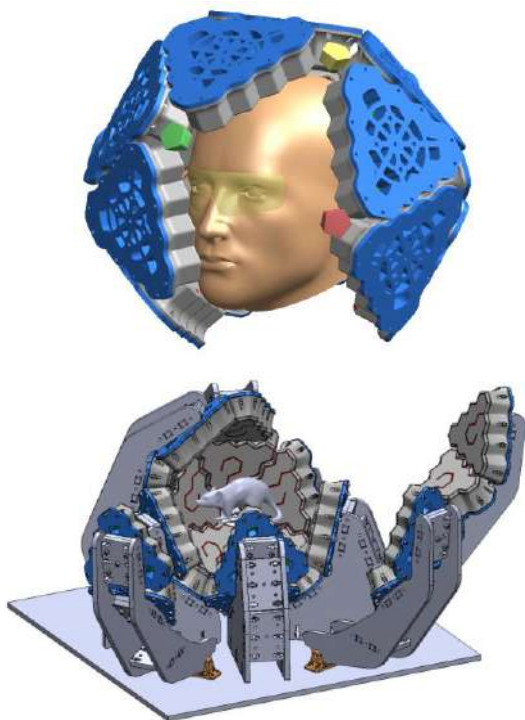


Figura 1. Diseño del escáner. Arriba: uso para escáner cerebral. Las aperturas pentagonales se pueden utilizar para fijar sistemas de monitorización. Abajo: en su versión a escala, el escáner se puede utilizar para estudios en pequeños animales.

En lo que se refiere al cristal del detector de radiación, la posibilidad de poder confinar los fotones generados en el centelleo en un espacio reducido que funcione a modo de guía de luz es ventajoso porque mejora la captación de luz en el fotodetector y reduce la luz compartida entre diferentes píxeles. Estas condiciones dan como resultado una mejora de la resolución espacial y un aumento de la colección de luz con menos dispersión temporal, términos que redundan también en la mejora de la resolución temporal y de energía. Con el objetivo de conseguir la condición de “guía de luz” en necesario conseguir la mayor reflexión interna dentro del cristal de centelleo. Los cristales con secciones circulares ofrecen más longitud para la reflexión interna total [9] y con ello mayor probabilidad de mantener los fotones dentro del cristal hasta hacerlos llegar al fotodetector. Por tanto la sección transversal ideal del pixel debería ser circular, como una fibra óptica, lo cual conduce al problema de empaquetado circular. Su solución óptima es la disposición de los círculos en los vértices de una matriz hexagonal. Sin embargo, la densidad de esta disposición es solamente de 90.69% [10]. Para maximizar el área sensible, finalmente se propone segmentar el cristal de centelleo en un patrón de panal de abeja, Figura 2. La técnica SSLE permite definir barreras ópticas con formas arbitrarias dentro de un bloque de cristal de centello. Esta configuración tiene como característica principal una sensibilidad y resolución superior en comparación a las matrices pixeladas por corte mecánico [11]. Además, este patrón ofrece otros dos beneficios: la posibilidad de descodificar la profundidad de interacción (DoI por sus siglas en inglés) mediante el grabado de dos patrones hexagonales a diferentes alturas en el cristal (Figura 2, derecha) y distancia uniforme entre los centros vecinos píxeles en contraste con la disposición cuadrada.

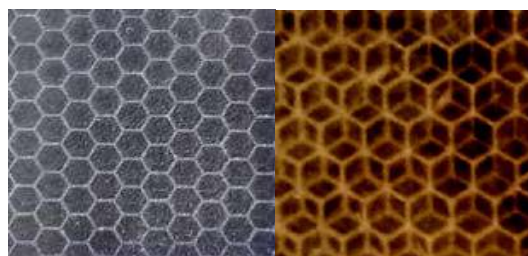


Figura 2. Tallado de cristales mediante SSLE en forma de panal de abeja. Izquierda: Tallado en simple. Derecha: patrón intercalado para la decodificación de la profundidad de interacción.

Detrás del centellador se encuentra el fotodetector MPPC [12]. Siguiendo el mismo principio topológico, un pixel hexagonal da mayor sensibilidad en comparación con un pixel cuadrado convencional. Por lo tanto, se ha diseñado un fotodetector hexagonal fabricado por Hamamatsu según nuestras especificaciones y utilizando la misma tecnología que emplea en sus MPPC comerciales. Los píxeles hexagonales individuales tienen lados de 2 mm y están dispuestos en una matriz de 61 píxeles, Figura 3, (izquierda). El fotodetector se ha fabricado con el estado de la técnica, como Through Silicon Via y la trinchera de aislamiento óptico entre píxeles. El cristal del centello está grabado con un total de 181 píxeles para maximizar la resolución espacial

con el mínimo tamaño de píxel alcanzable con la técnica SSLE, Figura 3 (derecha).

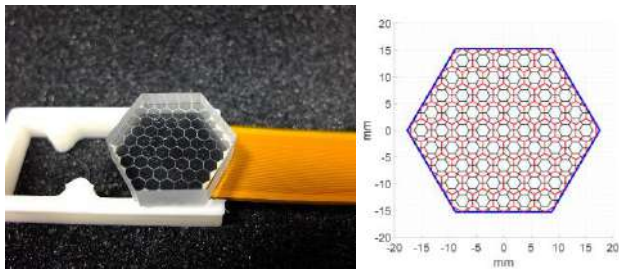


Figura 3. Izquierda: Cristal hexagonal monolítico sobre el detector hexagonal de 61 canales. Derecha: Esquema de la disposición del fotodetector hexagonal (rojo) y el píxel de grabado (negro).

Uno de los aspectos claves para una correcta reconstrucción es la normalización. La normalización es un método de corrección que tiene en cuenta factores como la variación de respuesta de cada detector, variaciones físicas en los cristales de centello y factores puramente geométricos [13]. Todos ellos hacen que las tasas de conteo varíen de forma no uniforme entre pares de detectores de los que en principio se puede esperar una respuesta similar. Existen dos métodos para realizar la normalización: directo y analítico [14]. En el primero, se expone cada par de detectores a una radiación de actividad y distribución uniforme de tal forma que cada par acumule un número de eventos estadísticamente significativo. Suponiendo una estadística de conteo de Poisson, el número de eventos N que debemos registrar en una normalización con una precisión de promedio de 1% es de 10.000 [15]. El número total de LOR que el escáner presenta teniendo en cuenta que cada píxel puede potencialmente interactuar con cualquier píxel de cualquier cara menos la suya propia, es de 622.359.000. Para los estudios de normalización se ha utilizado una esfera de 20 cm de diámetro, mayor tamaño que el campo de visión. Esto se traduce en un número aproximado de 480×10^6 LOR. El número total de eventos para una normalización directa con una precisión del 1% se eleva a órdenes de magnitud de 10^{12} . El elevado número de líneas de respuesta dificulta el uso de la normalización directa. En este trabajo se considera el uso de métodos analíticos, que separan la influencia de los diferentes factores anteriormente mencionados.

3. Resultados

Los resultados preliminares presentados sobre las características de del escáner se han obtenido mediante simulaciones en GATE v8.0 y PeneloPET 3.0 mientras que los resultados de la caracterización del detector se han conseguido con una fuente puntual de ^{22}Na .

3.1. Normalización

Con el objetivo de mostrar el sinograma tipo del escáner, en la Figura 4 se muestra el sinograma resultante de la esfera utilizada en la normalización en un conjunto de detectores en la parte central del escáner situados alrededor de la esfera. A diferencia de los escáneres cilíndricos, las franjas en las que

no se detectan LOR debido a la disposición de los detectores, no son líneas rectas.

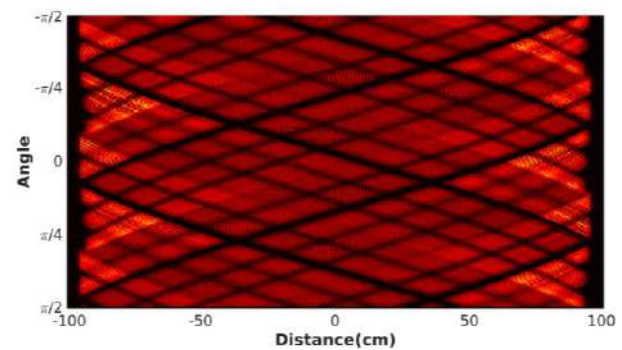


Figura 4. Sinograma de una esfera de 20 cm de diámetro en un único "anillo" en el centro del escáner.

Si bien las franjas vacías en el sinograma pueden completarse al incluir LOR entre el resto de los detectores, es visible en la Figura 4 que existe una disminución de la tasa de conteo en el centro del escáner. Esto queda de manifiesto mediante el perfil geométrico que viene dado por la suma de las columnas del sinograma [14]:

$$G(s) = \frac{1}{N_{\Phi}} \sum_{\Phi=1}^{N_{\Phi}} S(x, \Phi)$$

donde N_{Φ} es el número de proyecciones radiales, s es la distancia del centro del conjunto de detectores a la LOR y Φ es el ángulo polar. El perfil geométrico se muestra en la Figura 5.

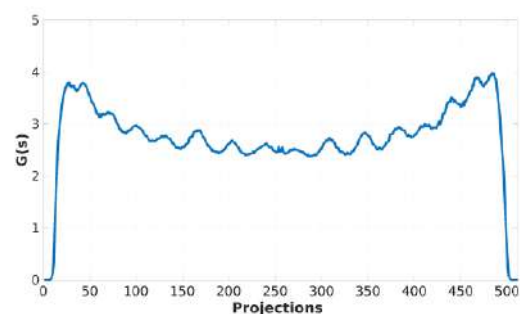


Figura 5. Perfil geométrico como la suma de las proyecciones radiales.

3.2. Pulso y espectro

La caracterización del detector se ha realizado acoplado la matriz hexagonal del detector con grasa óptica a un cristal centellador hexagonal monolítico hexagonal. El detector se conectó mediante cable plano a un ASIC de lectura con 64 canales con una ganancia de entrada de -1 e impedancia de carga de 51Ω . Los datos se adquirieron usando un osciloscopio Tektronix DPO 70404C con una frecuencia de muestreo de 3.125 GHz. Los pulsos de centelleo de cuatro canales centrales se muestran en la Figura 4. La amplitud más baja en uno de los canales se debe a la variación de ganancia entre SiPMs, un problema que se compensa con la ecualización de ganancia que no se ha aplicado a estos datos. El espectro de energía se ha calculado mediante la integración del pulso y el posterior histograma. El espectro tiene una energía resolución del 16% en el pico de 511 keV. El pico del borde Compton a 350 keV también se muestra si

bien su amplitud es pequeña como es de esperar en un cristal estrecho de 1 cm. También se muestra en el espectro el pico de 1.27 MeV de transición nuclear, Figura 5.

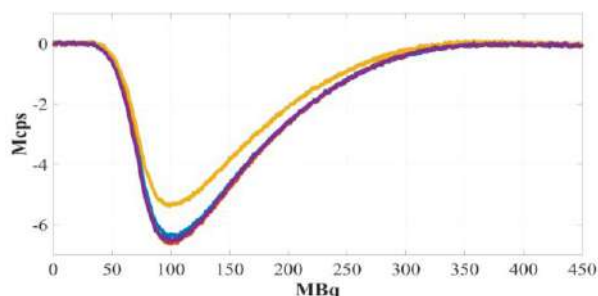


Figura 6. Pulsos de centelleo de ^{22}Na detectados en los píxeles centrales del fotodetector.

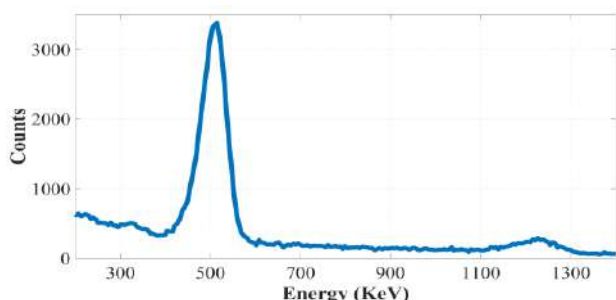


Figura 7. Espectro para uno de los canales en la parte central del detector

4. Conclusiones

Se ha conseguido el diseño de un escáner PET de cobertura 4π estereorradianes como primera aproximación a la forma esférica ideal. Esto va acompañado del diseño y producción de unos nuevos fotodetectores hexagonales. El primer paso hacia la caracterización de los detectores hexagonales muestra características similares en términos de resolución de energía que los píxeles cuadrados convencionales y mejores desde el punto de vista de la sensibilidad. Los resultados preliminares permiten confirmar la hipótesis inicial sobre la alta resolución, alta sensibilidad del diseño, así como los estrictos requisitos para la lectura de las matrices de MPPC en términos de número de canales, ancho de banda y rechazo de pile-up. Esto sugiere que este escáner podrá hacer estudios dinámicos de alta resolución. El diseño abre la posibilidad a la reducción de la dosis de trazador o el tiempo de adquisición sin reducir la calidad de la imagen. Actualmente se está completando la normalización del escáner y se están evaluando diferentes métodos de reconstrucción. Por otro lado se está trabajando en el estudio de la caracterización completa del escáner y la comparación con cánceres específicos de cerebrales con fantasmas de cerebro.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Programa Human Frontier Science (RGP0004 / 2013), proyectos RTC-2015-3772-1 y TEC2016-78052-R del Ministerio de Ciencia e Innovación español, y el proyecto TOPUS S2013 / MIT-3024 del gobierno regional de Madrid. Este trabajo también reconoce

el apoyo de la H2020 de la UE en MediNet en la actividad de redes de ENSAR-2 (acuerdo de subvención 654002).

Referencias

- [1] Z. Cho, K. Hong, S. Hilal, Spherical positron emission tomograph (S-PET) i - performance analysis, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research 225 (2) (1984) 422 – 438. doi:[https://doi.org/10.1016/0167-5087\(84\)90282-5](https://doi.org/10.1016/0167-5087(84)90282-5).
- [2] J. G. Colsher, Fully-three-dimensional positron emission tomography, Physics in Medicine & Biology 25 (1) (1980) 103.
- [3] J. B. Ra, C. B. Lim, Z. H. Cho, S. K. Hilal, J. Correll, A true three-dimensional reconstruction algorithm for the spherical positron emission tomograph, Physics in Medicine & Biology 27 (1) (1982) 37.
- [4] Assessment of dedicated brain PET designs with different geometries. doi:10.1109/NSSMIC.2013.6829193.
- [5] Simulation study for designing a compact brain PET scanner. doi:10.1109/NSSMIC.2015.7582245.
- [6] K. M. Bushby, T. Cole, J. N. Matthews, J. A. Goodship, Centiles for adult head circumference., Archives of Disease in Childhood 67 (10) (1992) 1286–1287. doi:10.1136/adc.67.10.1286.
- [7] Z. Zhuang, B. Bradtmiller, Head-and-face anthropometric survey of u.s. respirator users, Journal of Occupational and Environmental Hygiene 2 (11) (2005) 567–576, PMID: 16223715. doi:10.1080/15459620500324727.
- [8] B. S. J., A. C. I., P. D. M., B. A. E., Relationship between head circumference and height in normal adults and in the nevoid basal cell carcinoma syndrome and neurofibromatosis type i, American Journal of Medical Genetics 40 (2) 206–210. doi:10.1002/ajmg.1320400217.
- [9] M. Adams, An introduction to optical waveguides, New York Wiley, 1984.
- [10] L.-C. SChang, Hai-Chau; Wang, A simple proof of Thue's theorem on circle packing, arXivdoi:1009.4322.
- [11] G. Konstantinou, R. Chil, M. Desco, J. J. Vaquero, Subsurface laser engraving techniques for scintillator crystals: Methods, applications, and advantages, IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences 1 (5) (2017) 377–384. doi:10.1109/TRPMS.2017.2714265.
- [12] K. K. A. Ghassemi, K. Sato, MPPC. technical note (2017).
- [13] E.J. Hoffman, T.M. Guerrero, G. Germano, W.M. Digby, M. Dahlbom, PET system calibrations and corrections for quantitative and spatially accurate images, IEEE Transactions on nuclear science 36 (1) (1989) 1108-1112. doi:10.1109/23.34613
- [14] P. E. Valk, D. L. Bailey, D. W. Townsend, M. N Maisey: Positron Emission Tomography, Basic Science and Clinical Practice (2005). doi:10.1007/b136169
- [15] S. R. Cherry, J. A Sorenson, M. E Phelps, Physics in Nuclear Medicine (2005). doi:<https://doi.org/10.1148/radiol.2343042582>

Sesión GIB

Jueves, 22 de noviembre

Understanding human response to tactile stimuli: A Machine Learning approach

I. Varela Leniz¹, A. Alberdi Aramendi¹, M. Barrenechea Carrasco¹, E. Chinellato²

¹ Biomedical Engineering Department, Mondragon Unibertsitatea, Mondragón, Spain, irene.varela@alumni.mondragon.edu, {aalberdiar, mbarrenetxea}@mondragon.edu

² Middlesex University, London, United Kingdom, e.chinellato@mdx.ac.uk

Abstract

Whereas understanding human reaction to touch is of great interest in many medical applications, it is still a very unknown field. This research aims to clarify the nature of the relation between endogenous and exogenous attention by analysing electroencephalographic (EEG) data regarding human touch. To this end, data collected from twelve subjects under an experiment based on a variation of the Posner's cue-target paradigm has been used. After pre-processing, several multi-class classification models based on state-of-the-art machine learning algorithms have been implemented and their accuracy in detecting different experimental conditions have been evaluated. A temporal analysis has also been performed to select the most representative time points. Results showed that although the physical stimuli was identical across conditions, different types of attentional scenarios were classified above chance. Further, the hemisphere contralateral and ipsilateral to the attended side contributed differently, across time, to the accuracy of classification.

1. Introduction

In everyday life, humans can perceive the surrounding world through what is known as the five senses, responsible for connecting the environment in which we operate with our nervous system. Neural activities involved in these processes play an important role in the interpretation and responses to those stimuli. Neuropsychology science is essential to understand how our brain acts before these stimuli. Due to the growing volume and variety of available data in medicine, as well as to the cheaper and more powerful computational processing and affordable data storage, the acquisition of new knowledge on the subject is becoming increasingly easier.

Regarding the different types of stimuli and attentional scenarios to which a subject can be subjected, the brain response varies. Posner's paradigm has been widely used in neuropsychological researches to analyse these differences in brain processing at different states of attention. This paradigm is based on the presentation of a unilateral cue followed by a target at the same or opposite location. The cue can predict targets at the same (endogenous predictive task) and opposite location (endogenous counter-predictive task), or it can be a non-informative cue (exogenous task) (for further information see [1]).

Our goal in this paper is to analyze some characteristic wave sequences of the EEG tracing, called alpha-band oscillations, in this specific case caused by the attention to tactile stimuli, to detect patterns related to the type of task (endogenous predictive, endogenous counter-predictive or exogenous) being performed. Therefore, a tactile-version of the Posner's paradigm has been used. These findings can result in the determination of the neural activation most related with the different attentional scenarios, being useful in medical diagnosis or in prosthetics, such as, in the development of intelligent prostheses.

For this end, Machine Learning (ML)-based models can be used. ML is a subdiscipline of artificial intelligence (AI) aimed at building algorithms that are able to learn and/or adapt their structure based on a set of observed data (i.e., example data or past experience) [2]. ML techniques offer an approach for the analysis of high-dimensional and multimodal biomedical data.

Previous research has demonstrated that the oscillation components registered after a tactile stimulus show desynchronization and synchronization depending on the type of task. Shifting attention in space has shown to modulate alpha power in vision [3] and touch [4].

In addition, when investigating attentional shifts numerous studies have emphasized the importance of the brain lateralization function and have typically compared activations for the ipsilateral (same side) and contralateral (opposite side) hemispheres to the stimulus applied. Since brain anatomy and function differ for the left and right hemispheres, some cognitive functions tend to be dominated by one side or the other, so that it is said that the brain function is lateralized.

There is still much work to do towards the understanding of human response to tactile stimuli. Diverse statistical analyses have been carried out to try to find critical activation components, although, there has been no attempt to apply ML techniques to identify which are the most relevant time intervals in alpha oscillations waveform yet. Moreover, the importance of the brain lateralization function and whether the positivity of the ipsilateral zone or the negativity of the contralateral zone is more related to attentional tasks is still unknown.

This paper aims at filling this research gap. The main contributions can be summarised as follows. We analyse the possibility of detecting the type of attention task by applying ML techniques on features obtained from EEG activation signals, as well as identifying the features that contribute the most to this detection. In addition, we analyse the differences regarding the laterality of the brain and finally, we analyse the agreement of these results with the raw activation signals.

2. Methods

2.1. Data collection

The data used in this study contain raw EEG wavelets from twelve participants (10 right-handed, 7 male and 5 female, aged $M=25.6$ years (range: 20-37 years)) who were submitted to three different types of tasks: exogenous, endogenous predictive and endogenous counter-predictive [1]. Each task involved the presentation of a tactile cue, followed by an inter-stimulus interval and the target. The participants were asked to respond as quickly as possible to the targets. EEG data were recorded using 32 electrodes arranged on the scalp of the subjects according to the 10-20 system at a sampling rate of 500 Hz. After initial pre-processing, we had available 431 endogenous-predictive, 394 endogenous counter-predictive and 258 trials for the exogenous task. For more information on the data collection experiment and preprocessing steps, see [1].

2.2. Preprocessing

First, we discarded EEGs containing artifacts and trials with behavioural errors. Moreover, only data collected by electrodes close to and around the somatosensory cortex (C3/4, P3/4 and F3/4) were kept, as these were the channels where tactile activations are found and attention effects on tactile processing are expected [1]. Then, we removed noise by smoothing the signals and we selected the time interval and frequency bands of interest. The selected time interval was 800 ms long, starting 50 ms before cue until target onset. This allowed us to get rid of the data not belonging to the cue-target interval. Since it is considered that dominant oscillations in human brain are present at the alpha band [5], we extracted these frequencies for further analysis by means of a bandpass filter. Next, we performed a downsampling of the raw EEG signals to a sampling period of 10 ms, which considerably reduced the required processing time. Finally, we computed the average of the signals by using a non-overlapping sliding time-window (TW) of 100 ms. This TW-length was selected empirically as the best value to significantly reduce the size of the data while keeping the minimum necessary detail to identify the most characteristic areas of the cue-target interval.

After the pre-processing step we had available a dataset of 864 instances (12 subjects x 3 tasks x 2 laterality conditions x attended/unattended cues x 6 electrodes) and 80 features describing the average EEG sequence values per TW, as well as the corresponding labels indicating the conditions of trial.

2.3. Data analysis

2.3.1 General activity classification by task

As previously stated, this analysis intended to find a pattern that allows grouping neural activity by tasks: exogenous, endogenous predictive and endogenous counter-predictive.

First, we split our pre-processed data into training and test sets (90% vs. 10%). Then, we built classification models for the training dataset using Random Forest (RF), Logistic Regression (LR) and Bernoulli (BNB) and Gaussian (GNB) Naïve Bayes algorithms available in *scikit-learn* toolkit for Python.

After that, we made predictions in the test dataset using our models and computed the accuracy of the models. Being our task a three-class (one class per task type) classification problem, the probability of minimum success for a random classifier would be 1/3. We are thus looking to achieve classification rates considerably above the chance value.

2.3.2 Selection of most representative time points

To estimate the relevance of each time-period to the learning stage, we computed the importance of the temporal features.

To do so, we built a classification model using RF algorithm and analysed the feature importance parameter given by the algorithm. For this process, we did not divide the cue-target interval into TWs as before, because averaging does not enable seeing features' contribution individually. Nevertheless, the consideration of individual features made data to be noisy. We smoothed the signal to capture important patterns while leaving out noise. Due to its simplicity and rapidity, the *moving average* filter has been used ($k=8$) for this purpose.

2.3.3 Consideration of the laterality of the brain

To analyse the importance of the brain laterality function and its influence in diverse sensorial modalities, the classification of the brain activations by task was performed considering the differences on signals depending on laterality. For this purpose, we separated the activations according to the laterality parameter, which caused the number of available features per trial to be reduced by half. Each trial only contained the electrodes belonging to a single hemisphere, which depended on the side where the cue appeared. We then repeated the steps 2.3.1 and 2.3.2.

2.3.4 Contrasting the results with the raw EEG signals

Finally, we compared accuracy rates to feedback the recorded raw activation patterns. These results aim to provide a clearer view of the characteristics in terms of amplitude changes in the different lobes and laterality conditions.

For this purpose, we distinguished activations by brain areas (central, frontal or parietal) and laterality, and we calculated the average value of EEG signal amplitudes for each case and per TW in the cue-target interval. This also

allowed to get rid of the noise and to visualize general and repetitive patterns throughout trials.

We also compared raw activations with classification accuracy results by emphasizing in the lateralization factor, i.e. the normalized ipsilateral-minus-contralateral difference [6]. To do so, we first computed the lateralization factors per TW and then, we averaged the indexes (LI) differentiating central, parietal and frontal areas.

3. Results

Figure 1 represents the accuracy values obtained for all classifiers per TW. It shows a clear over chance accuracy, as all results overcome that of a random classifier. A bell-shaped curve can be distinguished with a peak on the interval 300 - 400 ms after cue.

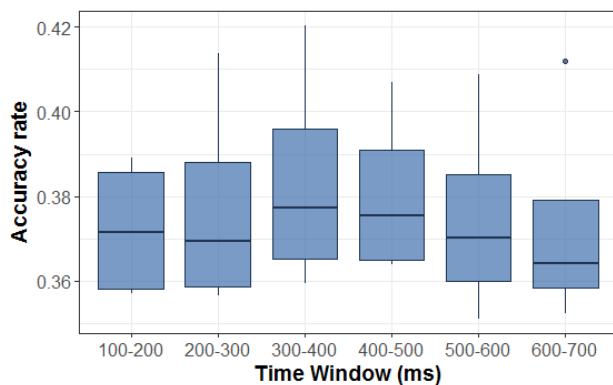


Figure 1. Representation of accuracy values obtained for the general classification models. x axis represents the TWs in ms. y axis represents the accuracy coefficient.

Figure 2 shows the contributions of the oscillation waves coming from different electrodes in the learning model.

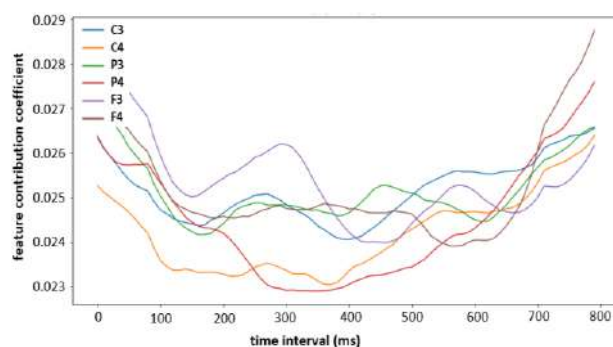


Figure 2. Representation of the importance of each component of the activation wave measured by each electrode. x axis represents the cue-target interval in ms. y axis represents the contribution of each feature in the ML model.

A pronounced peak around 300 ms time interval stands out for the case of the left-side frontal lobe (F3) whereas the signals recorded in the right area of that same lobe (F4) seem slightly higher than others (yet constant).

The importance to the activations registered in the left central zone (C3), follows the line of the frontal lobe, especially in the left hemisphere, although its contribution is smaller on the 300 ms time interval. However, after that instant, importance registered in the central area is greater than that in frontal zone.

Note also that central (C4) and parietal (P4) lobes of the right hemisphere do not seem to contribute much in the classification model. Nonetheless, the importance of the P4 increases slightly at the end of the 300 ms time interval.

Results in Figure 3 show that learning for the activations registered contralateral to the cue are higher than ipsilateral in a large part of the interval. However, in the last 200 ms, waves registered in ipsilateral areas get more relevance. Likewise, at the instant in which the 300 ms time interval is located, we obtained a high variability on the accuracy values for the ipsilateral activations, although the difference in the median accuracy value compared to the contralateral one is not significant.

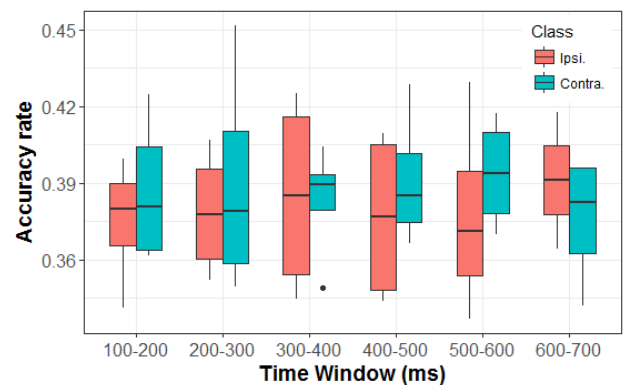


Figure 3. Representation of the accuracy values of the classification models according to the lateralization of the brain. x axis represents the TWs in ms. y axis represents the accuracy coefficient.

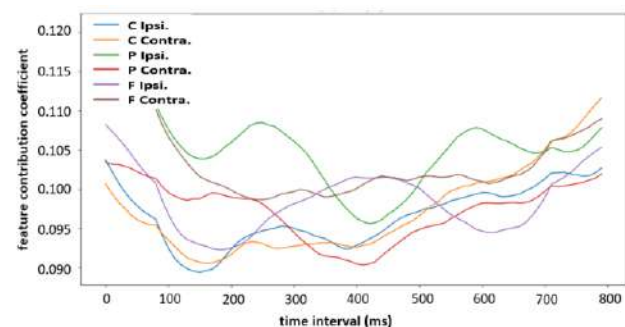


Figure 4. Importance of activation components per electrode and laterality of the brain. x axis represents the cue-target interval in ms. y axis represents the contribution of each feature in the ML model.

In Figure 4 a higher contralateral contribution can be distinguished, keeping it constant throughout the interval. The ipsilateral signals also show a peak around 300-350 ms after cue, posterior to the 300 ms time interval. The central

zone shows the lowest values among all, although the importance of the features increases slightly in the second half of the interval, with a small peak around the 150 - 200 ms after cue. In parietal lobe the activations recorded in the area ipsilateral to the cue stand out, with a pronounced peak indicating a great contribution in the classification model around 200 ms after cue.

Figure 5 indicates that highest amplitudes are registered in the parietal zone, especially in areas ipsilateral to the stimulus, remarking that differences between central and frontal signals are quite considerable. In the case of the signals recorded in the central lobe, even though activation is in general smaller, there are differences in laterality, with considerably higher values for the ipsilateral case. The signals recorded in the frontal area do not show significant differences.

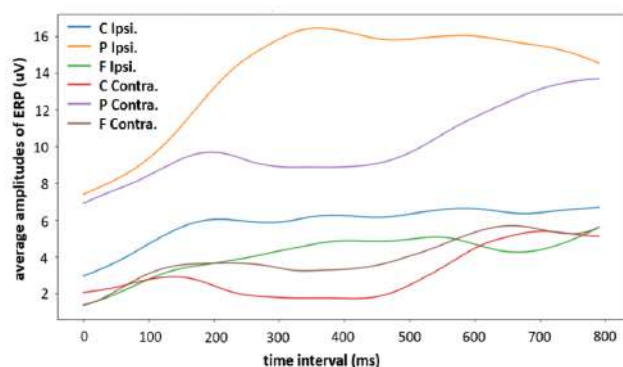


Figure 5. Average values of the activations per cortex lobe and laterality of the brain. x axis represents the cue-target interval in ms. y axis represents mean alpha oscillations in mv.

It should also be noted that as the time increases greater amplitudes are observed, especially where the 300 ms time interval would be located. In any case, for activations registered in contralateral areas to the stimulus an enhancement in the negativity of the waves can be observed, with a decrease in amplitude. Nevertheless, this effect is minor compared to the increase observed in ipsilateral zones.

As can be seen in Figure 6, the contralateral-minus-ipsilateral differences are larger in some time periods than in others, especially from 150 to 450 ms after cue and for signals registered in central areas.

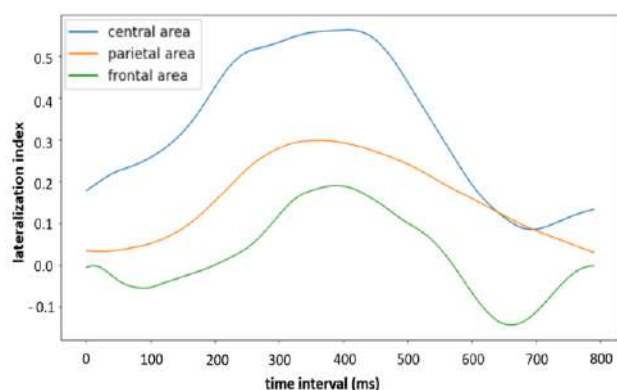


Figure 6. Averages of the LIs of the trials regarding the cue-target interval, per somatosensory cortex area. x axis represents the cue-target interval in ms. y axis represents the LI coefficient.

4. Discussion and conclusions

Results have shown that activation patterns are related to the conditions in which the tactile stimuli are applied. Consequently, EEG-based ML models have demonstrated to be able to distinguish between endogenous predictive, endogenous counter-predictive and exogenous tasks.

It is also significant that our simple ML models were able to predict the experimental conditions only by using data referred to the attention period, before the main stimulus occurred.

The temporal components most related to each type of attention are located around 300 ms after cue, suggesting that this time interval is the main component contributing to the prediction models. The importance of 140 ms time interval has been highlighted, after finding a great contribution in the learning process of signals registered in central contralateral areas over 150-200 ms.

Comparing the accuracy rates obtained in the classification considering the brain's laterality, we highlight the predominance of contralateral signals along almost cue-target interval. Anyway, around 300 ms time interval, the signals recorded in ipsilateral areas would also determine the differences between activations according to the type of attention. In addition, the results obtained about laterality difference, have demonstrated that the brain function is also lateralized with respect to attention in touch, where the signals registered in central lobe and around 300 ms after stimulus stand out.

References

- [1] A. Jones, B. Forster, Neural correlates of endogenous attention, exogenous attention and inhibition of return in touch, *Eur. J. Neurosci.* 40 (2014) 2389–2398. doi:10.1111/ejn.12583.
- [2] P. Sajda, Machine learning for detection and diagnosis of disease., *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 8 (2006) 537–565. doi:10.1146/annurev.bioeng.8.061505.095802.
- [3] S.P. Kelly, M. Gomez-Ramirez, J.J. Foxe, The strength of anticipatory spatial biasing predicts target discrimination at attended locations: a high-density EEG study, *Eur. J. Neurosci.* 30 (2009) 2224–2234. doi:10.1111/j.1460-9568.2009.06980.x.
- [4] S. Haegens, L. Luther, O. Jensen, Somatosensory Anticipatory Alpha Activity Increases to Suppress Distracting Input, *J. Cogn. Neurosci.* 24 (2012) 677–685. doi:10.1162/jocn_a_00164.
- [5] A. Jones, B. Forster, Alpha oscillations during exogenous and endogenous attention in touch, in: 24th Annu. Cogn. Neurosci. Conf., San Francisco USA, 2017. doi:10.13140/RG.2.2.24264.52489.
- [6] M.L. Seghier, Laterality index in functional MRI: methodological issues, *Magn. Reson. Imaging.* 26 (2008) 594–601. doi:10.1016/j.mri.2007.10.010.

Aging effects on resting state networks after an emotional memory task

G. Artola Balda¹, A. Errarte¹, E. Isusquiza¹, M. Barrenechea¹, A. Alberdi Aramendi¹, María Hernández-Lorca², E. Solesio-Jofre²

¹ Biomedical Engineering Department, Mondragon Unibertsitatea, Mondragón, Spain, {garazi.artola, ane.errarte, erik.isusquiza}@alumni.mondragon.edu, {mbarrenetxea, aalberdiar}@mondragon.edu

² Departamento de Psicología Biológica y de la salud, Facultad de Psicología, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España, elena.solesio@uam.es

Abstract

Aging is one of the primary health concerns in nowadays world, being memory decline an important worry that affects daily functioning of healthy adults. This work presents a study of this kind of decline in normal aging, by processing and analysing electroencephalographs (EEGs) of 72 healthy subjects, categorized as either young or older adults. These biosignals are first pre-processed using a customized pre-processing pipeline using the EEGLAB tool in Matlab. Once the signals have been pre-processed, two different analyses are carried out: a frequency analysis, obtaining the powers for each band of the EEG signals, and a time-frequency analysis. The data obtained from these studies is analysed using R, obtaining some important results and conclusions.

1. Introduction

Aging is one of the primary health concerns in the entire world. Healthy adults experience memory declines that affect their daily functioning, yet their ability to process emotion is well-preserved [1]. During the last decades, there have been several aging studies exploring brain plasticity in relation to cognitive and motor improvement [2-5]. However, the benefit of utilizing spared emotional abilities to help mitigate the memory decline that occurs with age has not been previously explored.

This is the premise of the MEMOTION project [1]. One of the main goals of this project is to analyse age-related neural networks underlying emotional and memory processes. Furthermore, the project presents a groundbreaking methodology to train brain plasticity and transfer those benefits to daily life. This way, the importance of age-related preserved emotions to improve memory deficits is enhanced.

The study design consists on a series of task-related and resting state EEG scans (rs-EEG) recorded before and after an eight-week training program in positive emotions to later examine the neuronal changes that occur in young and older individuals as a result of training. This article describes the analysis of rs-EEG before the training program in positive emotions.

The work presented in this paper has been developed in the context of a graduate-level project following the Project-based learning (PBL) methodology at Mondragon Unibertsitatea.

2. Materials and methods

This first chapter describes how the EEG recordings and data acquisition have been carried out.

2.1. Subjects

The study included 72 right-handed and healthy participants divided into two groups: 34 young and 38 older adults. The age range of young adults was between 18 and 26 years, while older adults ranged between 60 and 75 years.

2.2. Experimental setup

EEG recordings occurred twice: before (pre-test session) and after (post-test session) ten training sessions (training period), distributed across 8 weeks. The rest-task-rest EEG design of both EEG sessions was identical with a total duration of 1.5 h. Therefore, the overall experimental procedure was as follows: the pre-test session included a rest scan (rs1), followed by a task-related scan (tr1), after which another rest scan (rs2) was obtained. The pre-test session was followed by a training program in positive emotions for an 8-week period. Following completion of this training program, the post-test session included a rest scan (rs3), followed by a task-related scan (tr2), and subsequently another rest scan (rs4). See Figure 1 for data acquisition protocol. The current work focuses on the analysis of the rs-EEG scans before the training program (rs1 and rs2). All rest scans had the same protocol and lasted 5 min, in which participants were instructed to keep their eyes open and to fixate a target point.

2.3. EEG recordings and pre-processing

EEG is an electrophysiological monitoring system to record electrical activity of the brain, specifically from the post-synaptic pyramidal neurons [6]. It is typically non-invasive and acquired by means of electrodes that are placed along the scalp. These electrodes measure voltage variations resulting from ionic currents within the neurons of the brain.

EEG signal analysis generally focuses either on Event-Related Potentials (ERP) or on the spectral content of the biosignal. The former investigates potential variations time locked to an event-like stimulus, while the latter analyses the type of neural oscillations or brain waves that can be observed in the frequency domain [7]. As opposed to the ERPs, this type of neural oscillations can be analysed in a



Figure 1. Data acquisition pipeline

Brain wave	Frequency band
Delta	0.5 – 4 Hz
Theta	4 – 8 Hz
Alpha	8 – 12 Hz
Beta	12 – 30 Hz
Gamma	30 – 48 Hz

Table 1. Brain waves and their frequency bands [8]

resting-state. Resting-state EEG refers to the recording of the brain's electrical activity when a subject is not performing an explicit task. The frequencies of the brain signals are classified in different waves depending on the frequency band and the state where they appear (Table 1).

The EEGs were recorded with a BioSemi Active Two high density system with 128 electrodes. Additionally, four electrodes in the vicinity of the eyes were used to capture two electrooculogram (EOG) signals that recorded the vertical and horizontal eye movements. The data were digitalized at a sampling rate of 1024 Hz. Finally, data were offline re-referenced to the nose tip, giving a total number of 133 acquired channels.

3. Signal processing

In this chapter the techniques used for the pre-processing of the EEG signals are described, as well as the frequency and time-frequency analysis techniques.

3.1. Signal pre-processing

EEG signals contain multiple artifacts and noise sources that must be removed before these biosignals can be used for analysis. For that purpose, the signal pre-processing method used in this work is a customized version of the Makoto's pre-processing pipeline, adapted for EEGLab software [9].

3.1.1. Down-sampling

The first step is to reduce the sampling frequency of the signals from 1024 Hz to 256 Hz. This way, the computational load of the algorithm is reduced.

3.1.2. Bandpass filtering

Bandpass filtering is necessary for the elimination of noise and artefacts that are located outside the band of interest. In the works [10 - 11] the pass band of the resting state is considered to be between 1 and 45 Hz, so these cutting frequencies have been used for the realization of the first filtering stage.

3.1.3. Removal of bad channels

Channels that show erroneous or badly acquired information are eliminated and then interpolated using the signals of the adjacent channels.

3.1.5. Re-reference data to average

In this step, the signals of the electrodes are re-referenced. The new reference becomes an imaginary point obtained as the average of all the electrodes.

3.1.6. Independent Component Analysis (ICA)

Using the ICA, the EEG signal is separated into independent components. Then, the SASICA tool (Semi-Automated Selection of Independent Components for Artefact correction) of the EEGLAB library is used for eliminating the components containing artefacts.

3.1.7. Interpolation of removed channels

Finally, the channels that have been eliminated in previous steps are interpolated again.

3.2. Frequency analysis

With the aim of analyzing the spectrum of the EEG, the mean power of each of the EEG frequency bands presented in Table 1 has been computed. This calculation is carried out for each of the 128 EEG signals, for both rs1 and rs2.

3.3. Time-frequency analysis

When analyzing biosignals it is often interesting to see how the frequency content of the signal changes over time. These changes can be noticed by using time-frequency analysis techniques, such as the Short Term Fourier Transform (STFT), Cohen's classes of distributions or the Wavelet transform. In this study, the Morlet Wavelet Transform (MWT) was used in order to carry out the time-frequency analysis of the EEG signals. The MWT is a complex wavelet, comprising real and imaginary sinusoidal oscillations, which is convolved with a Gaussian envelope so that the wavelet magnitude is largest at its center and tapered toward its edges [12-13].

In this study, a wavelet factor of 7 [14] has been used and the spectrum has been divided into 124 frequency bins. Once the time-frequency maps using the MWT have been obtained, the power present in each frequency band has been calculated for 30 second intervals.

4. Data analysis

Once the power data from the different frequency bands was obtained, two different studies were carried out. First statistically significant changes were sought in frequency, and then, time-frequency changes were studied.

The main objective of this step is to determine whether there is any interaction between the two age groups (young vs. older) and the two different resting states (rs1 and rs2). For this, a two-way mixed analysis of variance (ANOVA) was carried out considering as intra-subject variable the rs-EEG scan, and as inter-subject variable the age group. The p-value of the relationship between age group and rs-EEG scan was observed.

A different ANOVA was performed for each of the EEG channels and each frequency band. The process was carried out in three different steps: i) Group the data based on the channel number, ii) Filter the desired number of channels, and iii) Make the ANOVA test for which an error term that accounts for natural variation from subject to subject was specified.

As multiple comparisons are being performed, it is necessary to control the expected proportion of falsely rejected hypotheses. For this, the False Discovery Rate (FDR) method of Benjamini and Hochberg [15] was used with a corrected p-value of 0.05.

Finally, in order to identify the type of change observed in those positive results, the average values of the observations were calculated by group and condition. This process was repeated for both frequency and time-frequency analyses.

5. Results

This section summarizes the results obtained through statistical analysis of frequency band power and time-frequency power data.

5.1. Frequency analysis results

The results of the ANOVA tests showed statistically significant differences in the alpha frequency band of 42 EEG channels regarding the interaction between age group and rs-EEG scan (Table 2).

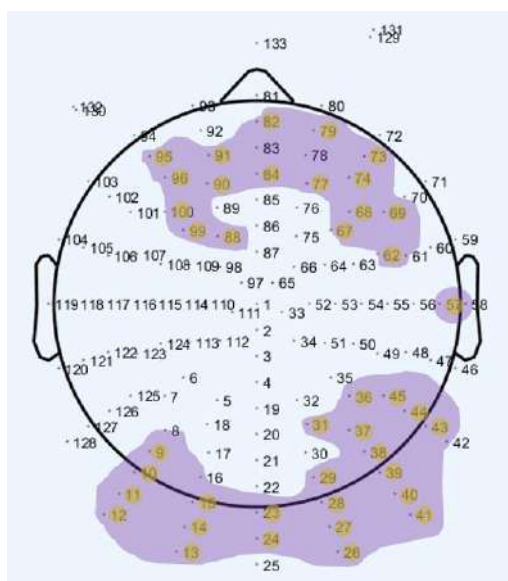


Figure 2. Map of the scalp showing the channels with a statistically significant difference regarding the interaction between age group and rs-EEG scan in the Alpha waveform

The underlying areas of the brain where these interactions are identified are the frontal, prefrontal, occipital and posterior areas (Figure 2). Regarding the delta waves, six channels were identified with significant statistical differences grouped in the occipital part of the brain. These differences however, may be due to artifacts that were not completely suppressed in the pre-processing stage.

Differences between the values of young and older adults between rs1 and rs2 follow the same trend in all cases without exception. On the one hand, the values for the young group are in all cases higher than for the elderly. On the other hand, the values increase from rs 1 to rs2 following the same trend for both young and older individuals, being this increase greater in the case of young adults.

These results can be observed in Figure 3, which shows results for each age group for the Alpha waveform in the 27th channel. As depicted in Figure 3, changes from rs1 to rs2 are more prominent in the young group compared to the older participants.

CH	p-value	CH	p-value	CH	p-value
9	0.016*	36	0.01547*	73	0.00695**
10	0.0167*	37	0.010406*	74	0.01405*
11	0.00084***	38	0.00234**	77	0.00834**
12	0.004803**	39	0.001**	79	0.00830**
13	0.000667***	40	0.00149**	82	0.008006**
14	3.81e-05****	41	4.99e-05****	84	0.01072*
15	0.00281**	43	0.0145*	88	0.00929**
23	0.009079**	44	0.00242**	90	0.00314**
24	0.002683**	45	0.000264***	91	0.006696**
26	0.00359**	57	0.01476*	95	0.010938*
27	4.42e-05****	62	0.010679*	96	0.0011**
28	0.0022**	67	0.00138**	99	0.0122*
29	0.009567**	68	0.01082*	100	0.01503*
31	0.00287**	69	0.00627**	108	0.0148*

Table 2: Statistically significant results for the Alpha waveform case per channel (CH).

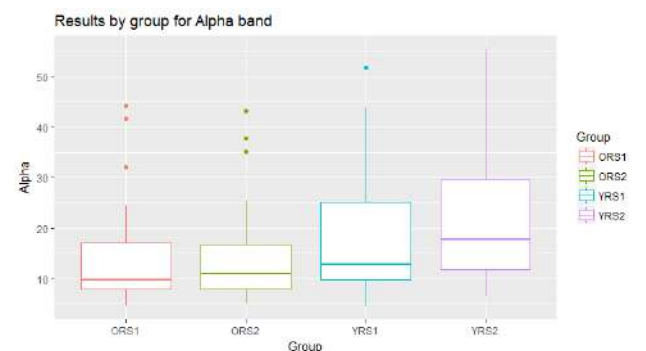


Figure 3: Boxplots of the Alpha bandpower results for each group.

5.2. Time-frequency analysis results

The results obtained from the analysis of the time-frequency data are not as prominent as in the previous case. In this instance, only 15 significant values are found after applying the FDR, as can be seen in Figure 4. However, it can be clearly seen that the alpha band is strongest in the third (Alpha3) and sixth (Alpha6) windows (intervals from 1:00-1:30 min and 2:30 -3: 00 min). After calculating the grand mean between the different windows, no relevant trend is seen.

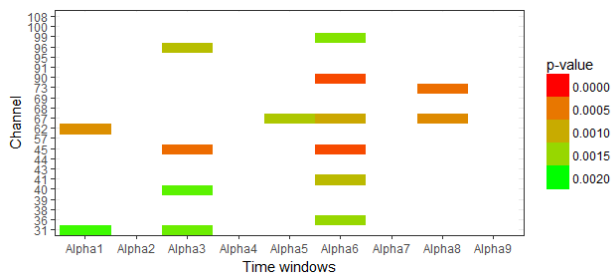


Figure 4: Statistically significant results for each time window in the Alpha waveform per channel.

6. Conclusions

Due to the rapid population aging that most developed countries are experiencing, the search for techniques that allow to ameliorate the loss of cognitive abilities that older individuals face is a general priority. The innovative nature of the project MEMOTION is two-folded. First, we have designed a training program that benefits from well-preserved emotional processes to mitigate memory problems that occur with age. Second, we have used rs-EEG to predict age-related changes in the resting brain as a result of training. The current work is a preliminary approach that focuses on rs-EEG scans before the training program.

The main conclusions have been drawn from the data analysis of the frequency content of the analyzed signals. Statistically significant differences in the alpha band between rs1 and rs2 were found in the frontal, prefrontal and occipital zones for both young and older individuals. As for the delta waveform, statistically significant differences were found in the occipital area, although these may be a consequence of artifacts that were not completely removed in the pre-processing stage. The analyzed data shows that there is a significant increase in the power values from the first resting-state to the second one in both groups. This finding suggests that resting state can be used as a predicting tool to assess changes in neural activity after task performance. What is more, resting state changes as a result of the memory task are more prominent in the young adult group than in the elderly, showing that age is a significant factor that affects the resting state networks in the brain.

Regarding the results obtained for the time-frequency analysis, no statistically significant difference between the values for the different time windows have been obtained for all channels. This may be due to the window length selected for the analysis (30 seconds). Reducing this

window length may throw significant results when data analysis techniques are applied on the time-frequency data.

References

- [1] Solesio-Jofre, E. C. European Commission, «Projects and Results : Changing the course of cognitive decline in normal aging with positive emotions by training brain plasticity», 24-jul-2017.
- [2] B. Hu, Q. Dong, Y. Hao, Q. Zhao, J. Shen, y F. Zheng, «Effective brain network analysis with resting-state EEG data: a comparison between heroin abstinent and non-addicted subjects», *J. Neural Eng.*, vol. 14, n.o 4, p. 046002, 2017.
- [3] Y.-Y. Lee y S. Hsieh, «Classifying Different Emotional States by Means of EEG-Based Functional Connectivity Patterns», *PLoS ONE*, vol. 9, n.o 4, abr. 2014.
- [4] J. J. (Joshua) Davis, C.-T. Lin, G. Gillett, y R. Kozma, «An Integrative Approach to Analyze EEG Signals and Human Brain Dynamics in Different Cognitive States», *J. Artif. Intell. Soft Comput. Res.*, vol. 7, n.o 4, pp. 287–299, 2017.
- [5] R. J. Barry y F. M. De Blasio, «EEG differences between eyes-closed and eyes-open resting remain in healthy ageing», *Biol. Psychol.*, vol. 129, pp. 293-304, oct. 2017.
- [6] E. Niedermeyer y F. L. da Silva, *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- [7] D. H. Barros, «Potenciales relacionados a eventos cognitivos en psicología del deporte», vol. 1, p. 14, 2006.
- [8] P. Ariza et al., «Evaluating the effect of aging on interference resolution with time-varying complex networks analysis», *Front. Hum. Neurosci.*, vol. 9, may 2015.
- [9] S. C. for C. N. SCCN, «Makoto's preprocessing pipeline», 2016. [Available online]: https://scn.ucsd.edu/wiki/Makoto's_preprocessing_pipeline.
- [10] D. Mantini, M. G. Perrucci, C. Del Gratta, G. L. Romani, y M. Corbetta, «Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain», *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, n.o 32, pp. 13170-13175, ago. 2007.
- [11] M. Hata et al., «Functional connectivity assessed by resting state EEG correlates with cognitive decline of Alzheimer's disease – An eLORETA study», *Clin. Neurophysiol.*, vol. 127, n.o 2, pp. 1269-1278, feb. 2016.
- [12] 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.*, vol. 34, n.o 5, pp. 907-926, sep. 2008.
- [13] H. Wang, Z. Chen, S. Zou, y L. Zhao, «[The continuous analysis of EEG's alpha wave by morlet wavelet transform]», *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi J. Biomed. Eng. Shengwu Yixue Gongchengxue Zazhi*, vol. 27, n.o 4, pp. 746-748, 752, ago. 2010.
- [14] O. Faust, U. R. Acharya, H. Adeli, y A. Adeli, «Wavelet-based EEG processing for computer-aided seizure detection and epilepsy diagnosis», *Seizure*, vol. 26, pp. 56-64, mar. 2015.
- [15] Y. Benjamini y Y. Hochberg, «Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing», *J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol.*, vol. 57, n.o 1, pp. 289-300, 1995.

Tissue Engineering for modeling Epidermolysis Bullosa-Squamous Cell Carcinomas

A. González Masa¹, S. Guerrero Aspizua^{1,2,3}, C.J. Conti^{1,2}, M. García^{1,2,3}, E. Chacón-Solano^{1,2,3}, F. Larcher^{1,2,3} and M. del Río^{1,2,3}.

¹Department of Bioengineering, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, Spain.

²Regenerative Medicine and Tissue Engineering of Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain.

³ Epithelial Biomedicine Division, CIEMAT-CIBERER (U714), Madrid, Spain.

Abstract

Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa is a rare genodermatosis characterized, among other characteristics, by the presence of cutaneous blisters and the appearance of Squamous Cell Carcinomas that are very aggressive with a rapid lethal outcome; becoming the principal cause of mortality for this disease [1], [2]. Nowadays, there is not treatment neither for its original genetic mutation, or skin blisters nor for their associated tumors, and the short lifetime of these patients with diagnosed cancer, make very difficult to carry out clinical trials [3], [4]. Therefore, in order to evaluate new therapeutic approaches, it is necessary to develop new organotypic models that recapitulates the pathological features of the disease, with a great emphasis on the stroma composition that has been pointed as a key factor for the malignity [2], [5]–[10]. In this work, by use of Tissue Engineering, a Squamous Cell Carcinoma model was generated. Our characterization showed that the bioengineered humanized xenotransplants, resemble the characteristics of the original RDEB-SCC stroma, being a good approach to further understand the pathology and to test antineoplastic drugs directed primarily against the stroma of the tumors.

1. Introduction

Epidermolysis Bullosa (EB), a group of rare skin disorders, is characterized by skin fragility associated with blistering, chronic wounds and erosions that come about in response to minimal trauma [11]. Particularly, patients suffering Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa (RDEB) - caused by a mutation in the COL7A1 gene- present a higher risk of developing cutaneous Squamous Cell Carcinoma [12], [13]; thus presenting a cumulative risk of a life-threatening cancer [1], [13]–[15].

Among skin carcinomas, the incidence of Squamous Cell Carcinomas (SCCs) is growing over the past decades up to 200% [16]. Although the great majority (95%) of SCCs can be cured with minor surgery or local radiotherapy, the rest 5% associated with bullous skin diseases and chronic ulcerative conditions are very aggressive and lethal [2]. Cutaneous SCC is one of the principal mortality causes in EB population, particularly in RDEB patients [1].

Nowadays, the reasons why those patients rapidly develop aggressive SCC are unknown; so, the epidemiology and the histological variants of SCC are subjected to study.

Considering novel theories that highlight the influence of the extracellular matrix (ECM) composition in the final tumor aggressiveness and, that Cancer Associated

Fibroblasts (CAFs) promote fibrosis [17], [18] and can induce invasion and metastasis as a consequence of the mutation of COL7 [19], together with the lack of reliable models that faithfully recapitulate the complexity of RDEB-SCC; the Tissue Engineering (TE) turns up as a promising solution for bioengineering a three-dimensional organotypic that allows the modeling of the pathology and the rational development of new therapeutics.

2. Materials and methods

2.1. Cell culture

CAFs were obtained from cancer biopsies of RDEB patients at General Dermatology Services of La Paz Hospital (Madrid, Spain). They were transfected with Enhanced Green Fluorescence Protein (EGFP⁺) and, once embedded in a fibrin matrix, the medium was replaced by DMEM medium with 10% FBS and 10% ascorbic acid (50 µg/ml, Sigma).

The keratinocyte cell lines (4K and 106K) kindly provided by Dr. Andrew P. South (Division of Cancer Research of the University of Dundee (Scotland, UK)), where the 4K line that corresponds to the one with less tumorigenic potential and the 106K cell line with the most cancer-prone potential. They were transfected with Red Fluorescence Protein (RFP).

Cells were cultured in DMEM medium (GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD, USA) 10% FBS, (Hyclone™ GE Healthcare Life Science) and Antibiotic Antimycotic, (E3473N; Thermo Fisher), following standard protocols.

2.2. Tissue-Bioengineered model for SCC of RDEB

Our Tissue-Engineered RDEB-SCC model is based on the generation of an ECM capable of being repopulated by a cell-based humanized tumor stroma. CAFs were embedded in a bioengineered fibrin-based scaffold that was obtained from cryoprecipitate pig blood plasma provided by the Medicine and Experimental Surgery Unit of “Hospital Universitario Gregorio Marañón” [20].

Gel preparation

The protocol proposed by Patel *et al.* [21] was modified (Protocol 1 and Protocol 2) in order to reduce the period of time that is required for the development of the humanized ECM.

Scaffold architecture: in a final volume of 1.5 ml (x2 gel constructs), 0.7ml of seeding medium (DMEM medium with 10% of FBS) was mixed with 3 μ l of ascorbic acid (50 μ g/ml, Sigma). The volume corresponding to 3×10^5 fibroblasts per gel, 15 μ l of bovine aprotinin (Amchafibrin® 500mg; Fides Ecopharma S.A.), 215 μ l of fibrinogen solution, and 200 μ l of bovine thrombin (Sigma) diluted in 1 ml of CaCl₂ (25mM) and supplemented with Aprotinin (Amchafibrin® 500mg; Fides Ecopharma S.A.), was added. The mixture was placed in two 24-cell culture plates (Costar®; Corning) covering 1cm² of biomaterial (Spongostan Stand 50X70x10² stuk, Johnson & Johnson Medical) and allowed to solidify in an incubator. After gelification, 1 hour later, 1 ml of seeding medium with ascorbic acid was added and replaced every 48 hours.

Gel keratinocytes' culture

Protocol 1: Simultaneous implantation of tumor cells and stroma

It consists on the simultaneous implantation of the tumor cells (CAFs and 106K or 4K keratinocytes) and the stroma into immunodeficient mice.

3 days post-ECM preparation, keratinocytes were cultured on the gel through an injection in the middle of the model: 1×10^6 keratinocytes/gel, previously resuspended in 100 μ l of seeding medium. The external medium outside the spongostan-embedded gel was aspirated prior the incorporation of keratinocytes to prevent their suspension in the external media. The constructs were incubated for 1h at 37°C before 1 ml of seeding medium was added. Then, the TE tumors were left in incubation (with medium exchange every 48 h) until the transplantation into immunodeficient mice. 60 days post-ECM generation, the mouse was euthanized, and the tumor tissue was prepared for its histological processing.

Protocol 2: Previous establishment of the stroma and posterior introduction of tumor cells

The initial protocol was modified to develop a vascularized niche prior the implantation of cancer-prone cells in order to enhance tumor growth and engraftment. Five days after ECM generation, the constructs were transplanted into immunodeficient mice and, once the pro-tumor vascularized niche was developed (45 days post-transplantation of the construct), the keratinocytes were incorporated.

Number	Protocol	Keratinocytes	Fibroblasts
1	1	4K	RDEB-SCC
2	1	106K	RDEB-SCC
3	2	106K	RDEB-SCC

Table 1: Summary of the bioengineered tumor constructs. Model protocol and the keratinocytes and fibroblast used in each case are specified. Each construct has an assigned number.

2.3. Animals

For the grafting protocol immunodeficient Rj: NMRI-Foxn1nu (NMRI nu) mice (6 weeks old) were used (Elevage Janvier, France). Mice were aseptically cleansed

and grafted. They were housed for the duration of the experiment at the CIEMAT Laboratory Animal Facility (European Registration number ES280790000183) in pathogen-free conditions. All experimental procedures were carried out according to the European and Spanish laws. All procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee according to all legal regulations, and biosafety and bioethics guidelines.

2.4. Histological characterization of regenerated bioengineered tumors

Formalin-fixed paraffin sections (4-6 μ m) were used for standard histological and IHC analyses. To determine tissue architecture, sections were stained with hematoxylin and eosin (Gill 2 Hematoxylin and Eosin Y alcoholic; Thermo Shandon, Altrincham, UK) following a standard Sirius Red and Masson Trichrome (Sigma-Aldrich kit) staining protocols.

3. Results

Tumor growth was followed by macroscopic visualization: both in Protocol 1 and Protocol 2 (Panels A and B of Fig. 1, respectively).

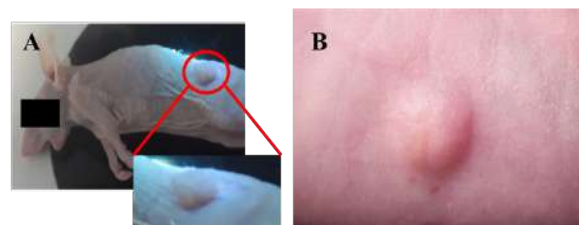


Figure 1: Macroscopic Characterization: spherical-shaped tumor due to the proliferation of tumor keratinocytes through the tumor ECM. Panel A: Tumor 1. The area enclosed by red circle corresponds to the tumor placed in the posterior part of the mice where it was transplanted. Panel B: Tumor 2.

3.1. Distribution of CAFs and Keratinocytes in the tumor matrix

Once the tumor was regenerated in an *in vivo* situation, the presence and viability of keratinocytes were observed (Fig. 2).

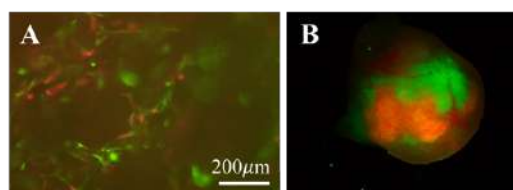


Figure 2: Keratinocyte viability and migration. Panel A: Microscopic characterization of tumor 2 under fluorescence microscope. 3D-fluorescence image where both the EGFP-CAFs and red-transfected keratinocytes are observed. Magnification 4x. Scale bar: 200 μ m. Panel B: 3D fluorescence image of tumor 3 obtained using XLView Loupe.

3.2. Characterization of the bioengineered tumoral stroma

Tumor model 1 had a very rich collagen I stroma (yellow arrow, Fig. 3 Panel A) with remained spongostan (black arrow, Fig. 3, Panel A). The tumor nests (red arrows, Fig.

3 Panel A) were small and did not show a high proliferative activity, but the stroma exhibited evidences of being alive and functional such as the presence of newly formed blood vessels (blue arrow, Fig. 3 Panel A). Then, it could be considered as previous immature stage of the tumor.

In tumor 2, bigger nests of cells (red arrows, Fig. 3 Panel B) were alive and trying to form proliferative groups. Regarding the composition of the stroma, as in the inner zone of the TE construct, the matrix is not so mature, and it did not exhibit malignant progression.

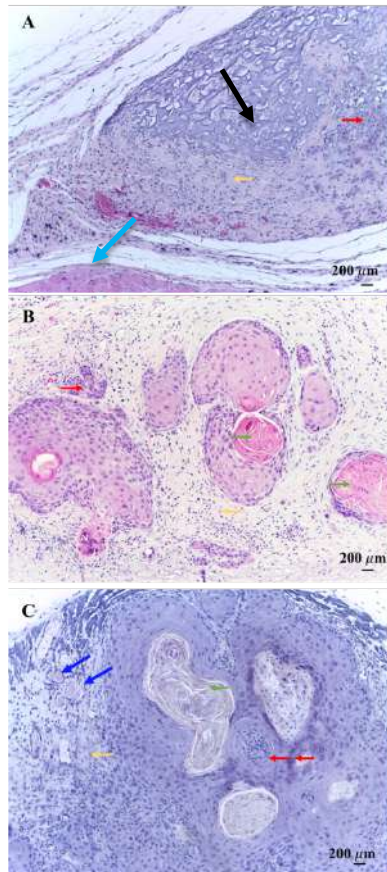


Figure 3: Hematoxylin and Eosin histological images. Magnification 10x. Scale bar 200µm. Panel A: Tumor 1. Black arrow: spongostan. Yellow arrows: humanized ECM. Red arrow: well-differentiated cellular nests. Blue arrows: blood vessels. Panel B: Tumor 2. Yellow arrows: humanized ECM. Red arrow: tumor nests. Green arrows: keratinized pearls. Panel C: Tumor 3. Yellow arrows: humanized ECM. Red arrows: tumor nests. Green arrows: cornified pearls. Blue arrows: blood vessels.

In tumor 3, the tumor was more proliferative (compare Panels A, B, and C of Fig. 4), and the structure resembled much more to that appearing in RDEB patients. The stroma rich in mature collagen I fibers (thicker and mature), aligned intermixed with the tumor nests (red arrows, Fig. 3, Panel C) and surrounding the whole structure in a capsule-arrangement (see keratinized pearls indicated by green arrows in Panel C of Fig. 3).

4. Discussion

The lack of RDEB-SCC models is an important factor that delay the understanding of this life-threatening disease [5], [21]–[24]. In this regard, this project aimed to develop an

experimental method focusing on the development of a bonafide bioengineered scaffold, that could mean a new platform to develop innovative therapeutic strategies that require the pre-clinical phase. Herein, two different approaches (adapted from previous tumor archetypes [21]) have been addressed to develop *in vivo* xenograft SCC organotypic models.

The pre-humanization and previous vascularization of the stroma seem to be a priority for successful in tumor model xenografting, as has been previously stated in human breast cancer tumor modelling [25]. The promotion of a vascularized bed prior matrix implantation significantly encourages tumor growth (as results of tumor 3); whereas, when the SCC constructs were transplanted all together (cancer cells with the stroma), tumor growth was not properly achieved (cases of tumors 1 and 2).

Tumor 3 was the most successful one: it resembled the RDEB-SCC histology where the stroma was more mature and collagen I enriched with the fibers aligned in a parallel manner.

All these evidences together point out, additionally to the aggressive nature of the tumor cells itself, the critical importance of the previous existence of a well-established human and vascularized niche able to recapitulate all the tumor conditions for facilitating SCC growth.

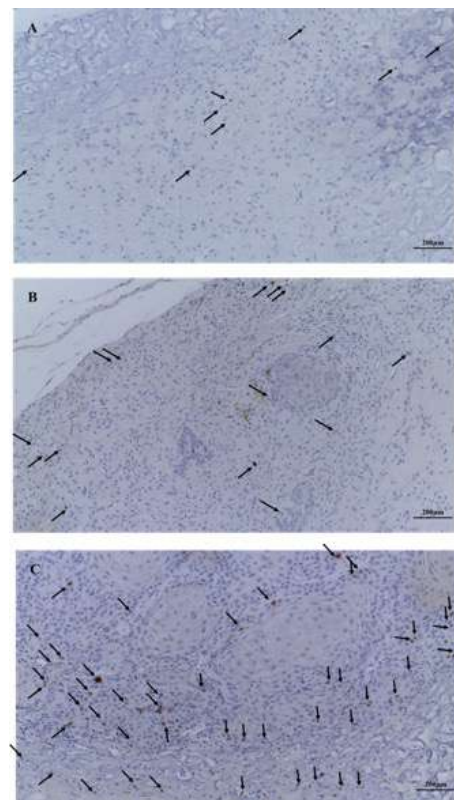


Figure 4: Ki67 analysis. Black arrows indicating proliferative cells. Magnification 20x. Scale bar:200µm. Panel A: Tumor 1. Panel B: Tumor 2. Panel C: Tumor 3.

5. Conclusion

The lack of preclinical models that accurately resemble the complex aggressive phenotype of Recessive Dystrophic

Epidermolysis Bullosa (RDEB) patients is delaying the arriving of new treatments for the lethal SCCs associated to this rare genetic disease. In this context, a new *in vivo* model for generating Tissue Engineered tumors composed of RDEB-SCC cells has been developed.

This project represents a proof-of-concept that Bioengineering tools allow to study and modify the different components of a particular tumor and help to understand their influence into the tumor aggressiveness. Taken together, Tissue Engineering tools applied to the modeling of tumor environment emerges as a powerful and promising technology.

Acknowledgments

This study was supported by grants from Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2013-43475R and SAF2017-86810-R); from “Instituto de Salud Carlos III” and CIBERER, and it was co-funded with European Funds (PT13/0001/0007, PI14/00931, PI15/00716, PI15/00956 and PI17/01747), from European Union (HEALTH-F2-2011-261392, and H2020-INFRADEV-1-2015-1). Additional funding comes from Comunidad de Madrid (AvanCell-CM S2017/BMD-3692); and a Research scholarship by “Fundación Científica de la Asociación Española Contra el Cáncer”, Spain.

References

- [1] J.-D. Fine, L. B. Johnson, M. Weiner, K.-P. Li, and C. Suchindran, «Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: the National EB Registry experience, 1986-2006», *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 60, n.º 2, pp. 203-211, feb. 2009.
- [2] A. Kivisaari and V.-M. Kähäri, «Squamous cell carcinoma of the skin: Emerging need for novel biomarkers», *World J. Clin. Oncol.*, vol. 4, n.º 4, pp. 85-90, nov. 2013.
- [3] A. W. Arnold, L. Bruckner-Tuderman, C. Zuger, and P. H. Itin, «Cetuximab therapy of metastasizing cutaneous squamous cell carcinoma in a patient with severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa», *Dermatol. Basel Switz.*, vol. 219, n.º 1, pp. 80-83, 2009.
- [4] J. E. Mellerio *et al.*, «Management of cutaneous squamous cell carcinoma in patients with epidermolysis bullosa: best clinical practice guidelines», *Br. J. Dermatol.*, vol. 174, n.º 1, pp. 56-67, ene. 2016.
- [5] V. R. Mittapalli *et al.*, «Injury-Driven Stiffening of the Dermis Expedites Skin Carcinoma Progression», *Cancer Res.*, vol. 76, n.º 4, pp. 940-951, feb. 2016.
- [6] H. Li, X. Fan, and J. Houghton, «Tumor microenvironment: The role of the tumor stroma in cancer», *J. Cell. Biochem.*, vol. 101, n.º 4, pp. 805-815, jul. 2007.
- [7] Y. Z. Lim and A. P. South, «Tumour-stroma crosstalk in the development of squamous cell carcinoma», *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 53, pp. 450-458, ago. 2014.
- [8] D. Mollevi *et al.*, «PRL-3 overexpression in epithelial cells is induced by surrounding stromal fibroblasts», *Mol. Cancer*, vol. 8, p. 46, feb. 2009.
- [9] J. Knaup, C. Gruber, B. Krammer, V. Ziegler, J. Bauer, and T. Verwanger, «TGFβ-signaling in Squamous Cell Carcinoma Occurring in Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa», *Anal. Cell. Pathol. Amst.*, vol. 34, pp. 339-53, ene. 2011.
- [10] U. Rodeck and J. Uitto, «Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa-Associated Squamous-Cell Carcinoma: An Enigmatic Entity with Complex Pathogenesis», *J. Invest. Dermatol.*, vol. 127, n.º 10, pp. 2295-2296, oct. 2007.
- [11] pmhdev, «Epidermolysis Bullosa - National Library of Medicine», *PubMed Health*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMHT0025345/>. [Access: 02-jun-2018].
- [12] A. Dammak *et al.*, «Squamous cell carcinoma complicating recessive dystrophic epidermolysis bullosa-Hallopeau-Siemens: a report of four cases», *Int. J. Dermatol.*, vol. 48, n.º 6, pp. 588-591, jun. 2009.
- [13] J.-D. Fine, *Epidermolysis Bullosa: Clinical, Epidemiologic, and Laboratory Advances, and the Findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry*. Johns Hopkins University Press, 1999.
- [14] D. L. Miller and M. A. Weinstock, «Nonmelanoma skin cancer in the United States: incidence», *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 30, n.º 5 Pt 1, pp. 774-778, may 1994.
- [15] R. Mallipreddi, «Epidermolysis bullosa and cancer», *Clin. Exp. Dermatol.*, vol. 27, n.º 8, pp. 616-623, nov. 2002.
- [16] «Squamous Cell Carcinoma (SCC) - SkinCancer.org». <https://www.skincancer.org/skin-cancer-information/squamous-cell-carcinoma>. [Access: 02-jun-2018].
- [17] «Fibroblast-Derived Dermal Matrix Drives Development of Aggressive Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in Patients with Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa | Cancer Research». <http://cancerres.aacrjournals.org/content/72/14/3522>. [Access: 02-jun-2018].
- [18] C. H. C. Sukowati, B. Anfusio, L. S. Crocè, and C. Tiribelli, «The role of multipotent cancer associated fibroblasts in hepatocarcinogenesis», *BMC Cancer*, vol. 15, p. 188, mar. 2015.
- [19] L. Guerra, T. Odorisio, G. Zambruno, and D. Castiglia, «Stromal microenvironment in type VII collagen-deficient skin: The ground for squamous cell carcinoma development», *Matrix Biol. J. Int. Soc. Matrix Biol.*, vol. 63, pp. 1-10, nov. 2017.
- [20] A. Meana, J. Iglesias, C. Martin, F. S. Roman, and F. Tevar, «Large surface of cultured human epithelium obtained on a dermal matrix based on live fibroblast-containing fibrin gels», p. 10, 1998.
- [21] G. K. Patel, C. Yee, S. H. Yuspa, and J. C. Vogel, «A humanized stromal bed is required for engraftment of isolated human primary squamous cell carcinoma cells in immunocompromised mice», *J. Invest. Dermatol.*, vol. 132, n.º 2, pp. 284-290, feb. 2012.
- [22] A. Nyström *et al.*, «Losartan ameliorates dystrophic epidermolysis bullosa and uncovers new disease mechanisms», *EMBO Mol. Med.*, vol. 7, n.º 9, pp. 1211-1228, sep. 2015.
- [23] M. Hidalgo *et al.*, «Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research», *Cancer Discov.*, vol. 4, n.º 9, pp. 998-1013, sep. 2014.
- [24] P. Malaney, S. V. Nicosia, and V. Davé, «One mouse, one patient paradigm: New avatars of personalized cancer therapy», *Cancer Lett.*, vol. 344, n.º 1, pp. 1-12, mar. 2014.
- [25] C. Kuperwasser *et al.*, «Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice», *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 101, n.º 14, pp. 4966-4971, abr. 2004.

PDMS Microfluidic Chip for Multiplexed Testing of Antibiotics against Tuberculosis

A. Torres-Simón¹, R. González del Río³, A. Muñoz-Barrutia^{1,2}, JJ. Vaquero^{1,2}

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, España, amaro.torres@uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, jjvaquer@ing.uc3m.es

³ GlaxoSmithKline-Global Health R&D, Tres Cantos, Madrid, España, ruben.r.gonzalez-del-rio@gsk.com

Abstract

*Tuberculosis (TB) is the ninth leading cause of death worldwide, killing an estimate of 1.6 million people per year [1]. In recent times, multidrug resistant tuberculosis has become a major global concern, evidencing the necessity of developing powerful drug combinations for an effective treatment of the disease. In this study, we present a multiplexed microfluidic platform that accelerates the testing of antibiotic combinations against tuberculosis, in an attempt to reduce the time invested in the preclinical phase of the drug discovery process. The developed device consists of a PDMS (Polydimethylsiloxane) chip composed of four microchannels of rectangular cross-section (240x300 µm) produced by soft lithography, and a 3-D printed structure that allows the microfluidic chip to be integrated into a microscope. The new microfluidic chip enables the simultaneous and independent testing of various antibiotics, reducing by a factor of four the testing time of current methods. Single-cell analysis of *Mycobacterium tuberculosis* expressing GFP can be realized in the microfluidic device, providing researchers with crucial information about phenotypic heterogeneity in bacterial strains. The results demonstrate the utility of the proposed lab-on-a-chip framework for the long-term monitoring of *M. tuberculosis* and the concurrent assessment of the susceptibility of mycobacterium to four different antibiotic cocktails by time-lapse fluorescence microscopy.*

1. Introduction

According to The Global Tuberculosis Report 2017, published by the World Health Organization (WHO), 10.4 million people fell ill with TB in 2016 and 1.6 million people died from this airborne disease caused by the bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, that usually affects the lungs leading to severe coughing, fever, night sweats and intense chest pain [1].

In the early 1990s multiple converging factors led to an explosive emergence of MDR-TB (multidrug resistant tuberculosis), implying that the bacteria become resistant to isoniazid and rifampicin, the two most effective first-line antituberculous drugs [2]. In recent years, extensive drug resistance (XDR-TB) has become a major concern worldwide, accounting for about 9% of drug resistance cases in the world in 2016 [1]. Fast spontaneous mutation rate in the chromosomes of *Mycobacterium tuberculosis* is believed to be the only mediator in multidrug drug resistance [2]. The treatment regime for MDR-TB is tougher and longer than that of standard TB, lasting for up

to two years and involving drugs that can cause serious side effects, such as hearing problems or liver damage.

Tuberculosis drug discovery and development declares especially challenging. A consequence of this is that in the last forty years only two new drugs have been approved against tuberculosis: Bedaquiline and Delamanid, in 2012 and 2014 respectively. The difficulty of new drug discovery against tuberculosis is attributed to the ability of *Mycobacterium tuberculosis* to survive in a variety of host lesions and to evade immune surveillance, as well as, the continuous growth of multi-drug resistant bacterial strains [3]. Additionally, limited commercial potential for new TB drugs, caused reduction of research activity in this area by pharmaceutical companies.

TB drug resistance and ineffective treatments make it urgent to develop a more powerful combination of drugs with less side effects, that enables a patient friendly, faster treatment of the disease. Current preclinical trial methodologies are inefficient and insufficient to evaluate optimal doses and combinations of anti-tuberculous drugs. This study aims to develop an integrated and multiplexed lab-on-a-chip platform that provides much needed data to indicate the most appropriate combinations of drugs that should enter the animal preclinical studies, saving time and resources in the challenging search of a definitive cure for tuberculosis.

Many researchers have exploited the characteristics of PDMS and the evolution of microfabrication and microfluidic technology to build lab-on-a-chip platforms that are set to revolutionize the speed and effectiveness of drug discovery. Specifically, in various studies PDMS microfluidic platforms have been created to perform antibiotic susceptibility testing on diverse types of bacteria. Sun et al. [4] developed a high-throughput microfluidic system composed of zero-flow microchambers for long-term monitoring and antibiotic testing of *E. coli* bacterium. Similarly, researchers from the University of Illinois created a multiplexed microfluidic device with incorporated mixing valves to carry out rapid antibiotic susceptibility testing at different concentrations [5].

Integrated, multiplexed platforms for antimicrobial susceptibility testing present obvious advantages over conventional laboratory procedures like reduced sample

volumes, faster response time, increased sensitivity, high parallelization, compactness and low cost [6].

In an attempt to accelerate susceptibility testing of antibiotics against *M. tuberculosis*, we developed a robust and stable multiplexed microfluidic device that enables single-cell analysis. Bacterial individuality can be investigated in the microfluidic device providing useful information about phenotypic heterogeneity of the bacterial colony in response to the tested antibiotics. The microfluidic device is composed by a PDMS microfluidic chip and a set of different pieces that enable the integration of the chip into a microscope and that assure the correct sealing of the microchannels to avoid any possible contamination, highly undesirable when working with pathogens as threatening as tuberculosis. The PDMS chip displays four independent microchannels with a rectangular cross-section of 240x300 μm that distribute the culture media and antibiotics to the bacterial colony. To facilitate single cell analysis through time-lapse microscopy of *M. tuberculosis* expressing GFP (green fluorescent protein), a semipermeable membrane is employed to immobilize the bacteria. An easily customizable 3-D printed structure was created to incorporate the PDMS chip in the imaging system and provide greater robustness to the microfluidic platform.

2. Materials and Methods

2.1. Microfluidic device design and fabrication

The microfluidic chip was designed to enable the single-cell analysis of *M. tuberculosis*, fulfilling a series of imaging, microfluidic flow and bacterial culture restrictions. The microchannels were designed in AutoCAD, inspired by the one described in [7].

The microfluidic chip, made of polydimethylsiloxane (PDMS), was fabricated using standard soft lithography techniques [8]. Briefly, the AutoCAD design was transferred to a silicon wafer by a process known as photolithography. A SU-8 (epoxy resin) photoresist material was deposited on the silicon wafer by spin coating, UV treated to harden the exposed areas and then etched to remove the excess material. The silicon wafer was then employed as a master mold in the soft lithography method. PDMS (Dow and Corning's Sylgard 184) in a 10:1 proportion (elastomer:curing agent) is poured on the mold, baked (1h at 70°C) and demolded. Following, inlet and outlet holes were performed with a puncher (diameter: 2 mm) to later introduce and seal with PDMS the silicon tubes (internal diameter: 0.76 mm) that transport the fluid in and out the microfluidic chip. Scanning electron microscopy images of the microchannels were taken with the Philips XL 30 SEM microscope.

Additionally, the chip holder and chip cover, as we denominated the pieces that allow the perfect sealing of the device and its integration on the microscope, were designed in SolidWorks. The chip holder was then 3-D printed in ABS, and the cover was manufactured in methacrylate to allow imaging of the microfluidic chip.

2.2. Bacterial strains and culturing conditions

Mycobacterium tuberculosis H37Rv genetically modified to express GFP was the employed bacterial strain. The expression of GFP facilitates the visualization and detection of the bacteria through fluorescence imaging during the time-lapse experiment.

The temperature of the bacterial culture inside the microfluidic device was kept at 37°C and the CO₂ concentration at 5% thanks to the environmental chamber of the microscope. O₂ and CO₂ reached the bacteria trapped inside the microfluidic device due to PDMS gas permeability, in accordance to Henry's Law.

7H9 medium was infused by the syringe pumps into the microfluidic channels to support the growth of *Mycobacterium*.

2.3. Microfluidic device assembly

A schematic view of all the components needed for the assembly of the microfluidic device for long-term monitoring and susceptibility testing of *M. tuberculosis* is provided in Figure 1.

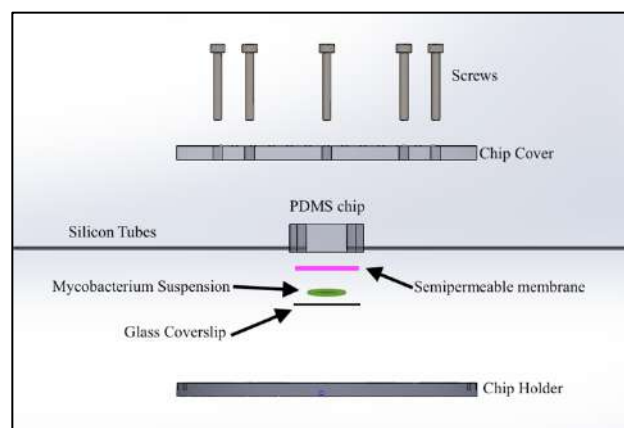


Figure 1. Exploded view of the microfluidic device.

Firstly, all the material was sterilized with UV light and ethanol. Next, the regenerated cellulose membranes (Spectra/Por® 7) were cut in the desired shape with the help of a 3D printed piece custom made to assist the technician. After desiccation and posterior rehydration with culture medium, as explained in [9], the membranes were let to dry partially at room temperature to get rid of unwanted exceeding fluid and then placed over the microchannels as flat as possible.

Mycobacterium tuberculosis was cultured in 7H9 medium, collected through centrifugation at 2,400 g for five minutes, and passed through a 5 μm filter to remove large bacterial clumps. Following, 4 μL of bacteria suspended in medium were spread on the membrane and a glass coverslip was placed covering the whole surface of the microfluidic chip, including the inlets and the outlets, to seal the microchannels and avoid fluid leakage.

The microfluidic PDMS chip was placed on the ABS chip holder with the surface covered by the coverslip facing downwards as shown in Figure 1. The chip cover was

attached to the holder by eight M3 stainless steel screws, sandwiching the PDMS, membrane and coverslip.

Once the microfluidic chip was perfectly sealed, the tubing was connected to a Pump 11 Elite Harvard Apparatus that infused 7H9 medium and the desired antibiotic cocktail at 25 $\mu\text{L}/\text{min}$.

2.4. Time-lapse microscopy and image analysis

The assembled microfluidic device was placed on a Delta Vision Imaging system (General Electric, USA), an inverted microscope with oil immersed objective, working at 100x magnification.

The first step for time-lapse microscopy was to manually mark between 50 and 100 points in each microfluidic channel and to focus the image for each of those points. The focusing is performed with the phase contrast light source, because *M. tuberculosis* is sensitive to light and exposing it to the blue light source of fluorescence microscopy can bleach, damage, or even kill, the bacteria. The microscope was set to visit each point every four hours, taking a phase contrast and a fluorescence microscopy image.

Time-lapse videos were created using ImageJ software. Image sequences were imported via the Bioformats plugin, separating the fluorescence and phase contrast images. Independent videos were obtained for phase contrast and fluorescence imaging, to be later merged. Fluorescence signal curves were obtained by measuring the average pixel value and standard deviation of a designated ROI in ImageJ from fluorescence time-lapse videos. The number of cells was considered to be proportional to the fluorescence intensity on the ROI, therefore, the curves allow to quantify the evolution of the bacterial culture during the experiment.

3. Results

3.1. Microfluidic device design and fabrication

The design of the PDMS microfluidic chip (Figure 2.a) displays four independent microchannels with the shape of a serpentine confined in a 10 mm circle. SEM images illustrate the dimensions of the PDMS functional microstructures produced by soft lithography. The Dimensions of the microchannels are $H = 240 \mu\text{m}$ and $W = 300 \mu\text{m}$ (Figure 2.c). The total length of the microchannel is 15.24 cm. The inlet and outlet have a diameter of 1.76 mm. The architecture of the 3-D printed chip holder (red) and the methacrylate chip cover (transparent) can be appreciated in Figure 3.

3.2. Device Assembly and operation

The microfluidic device is the result of assembling the PDMS microfluidic chip, the chip holder and cover, the coverslip, and the semipermeable membrane. Figure 3 depicts the assembled microfluidic device, ready to be introduced in the microscope for time-lapse experiments.

A 25 $\mu\text{L}/\text{min}$ flow is infused into each of the four microchannels, providing the bacterial culture with fresh medium and the desired mixture of antibiotics. The bacteria growing inside the device are fed by diffusion of fresh medium across the semipermeable membrane.

Additionally, the membrane enables the immobilization of *M. tuberculosis* to facilitate the imaging procedure.

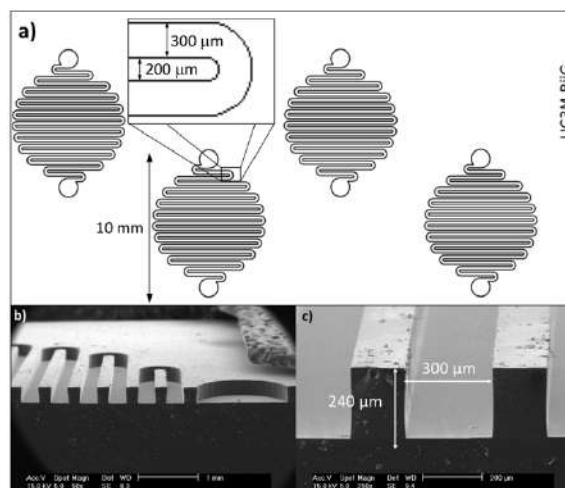


Figure 2. a) AutoCAD illustration of the microfluidic chip. b) SEM micrograph of the PDMS microchannels

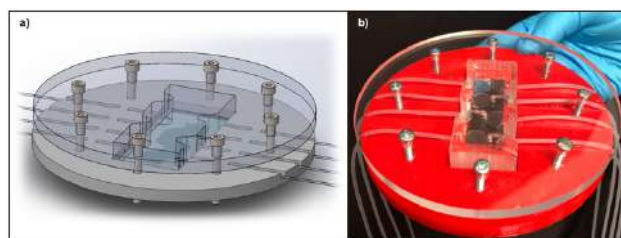


Figure 3. Microfluidic Device Assembly. a) SolidWorks model. b) Actual image of the device.

3.3. Mycobacterium tuberculosis culture and monitoring in the microfluidic device

The developed platform was successfully employed to conduct multiplexed time-lapse microscopy of independent *M. tuberculosis* cultures. To demonstrate the functionality of the microfluidic device, a control growth experiment was performed, in which the four bacterial cultures were fed only with 7H9 medium, and no drugs were infused in the microchannels.

Consequently, the obtained time-lapse videos correspond to a control in which no antibiotic was supplied to the bacteria. Therefore, it can be observed how the bacteria freely grow and divide in the microfluidic chip for 220 hours. *M. tuberculosis* is characterized by a slow growth rate; the division time ranges between 16 to 21 hours [10]. In the resulting videos, it can be appreciated a bacterial division rate in line with the one stated in literature, confirming a normal growth of the bacteria inside the microfluidic device. Figure 4 shows five different frames of a time-lapse video corresponding to one of the four microchannels ($t=0, 48, 96, 144, 192$) that represent the evolution of a bacterial colony. The images shown are the result of merging the fluorescence (green) and phase contrast (red) channels. In red, appears the PDMS microchannel, so we know that this image was taken at the edge of the microchannel; the darkest part corresponds to the medium flowing inside the microchannel. *Mycobacterium tuberculosis* appears in bright green due to GFP fluorescence.

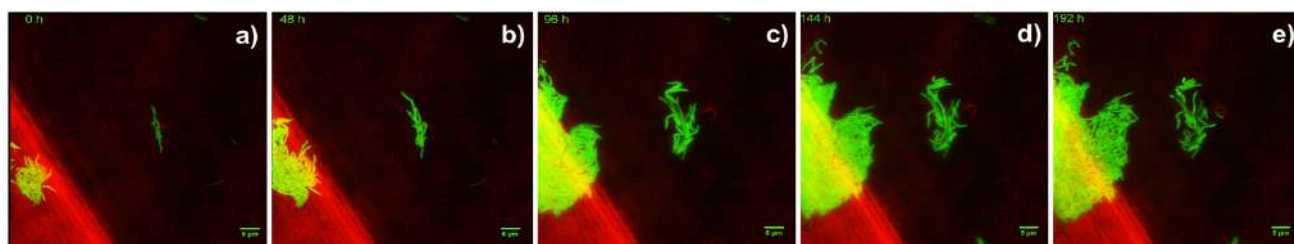


Figure 4. Time-lapse microscopy image sequence of *M. tuberculosis* expressing GFP growing inside the microfluidic device.

To quantify the results obtained from the time-lapse video, a fluorescence intensity signal curve was produced. Figure 5 represents the temporal variation of fluorescence intensity during the first 124 hours of the time-lapse video. One can observe how in this time interval (0-124 h) the intensity of the GFP signal increases with time, confirming the growth and expansion of the bacterial colony inside the microfluidic device. Faster mycobacterium growth is realized during the interval 48-104 hours, represented by rapid increase of the fluorescence signal, until the signal reaches a plateau, meaning that the colony entered a latency stage in which growth and cellular death are balanced (108-124 h).

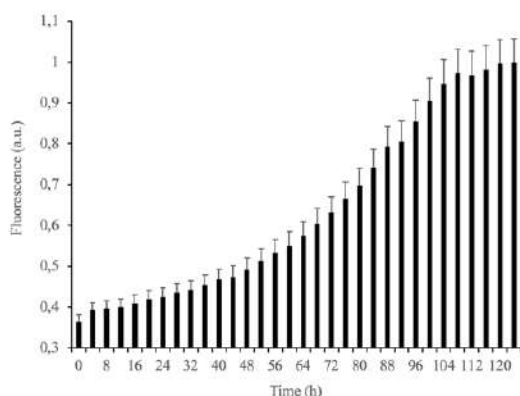


Figure 5. Temporal change of the fluorescence intensity during incubation in the microfluidic device. Error bars represent standard deviations.

4. Conclusion

A high-throughput, multiplexed microfluidic device was designed and fabricated to cover the pharmaceutical industry need of a new platform for the simultaneous testing of several antibiotics against *Mycobacterium tuberculosis*.

The developed microfluidic device is intended to substitute conventional methods for antibiotic susceptibility testing that require large sample and reagent volumes, are very time consuming and have low combinatorial capability. The developed multiplexed solution accelerates the preclinical phase of the drug discovery for antibiotics, having a significant impact in the research of new drug combinations that allow to tackle MDR-TB more efficiently manner and with reduced side effects.

Detection of GFP expression by time-lapse microscopy was employed to assess the growth of the bacterial colony inside the microfluidic system. The controlled growth in the device demonstrates the usability and functionality of

the developed platform for the long-term monitoring of bacteria and sets the basis for future multiplexed susceptibility testing of antibiotics against *M. tuberculosis*.

Acknowledgements

This research project received funding from the Innovative Medicines Initiative (IMI). Joint Undertaking under grant agreement no. 115337, whose resources comprise funding from the European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) and EFPIA in kind contribution.

We acknowledge the assistance of Prof. Alejandro Várez and Cristina Moral (UC3M) in obtaining SEM micrographs.

References

- [1] Anonymous. Tuberculosis: WHO global report, *WHO Drug Information*, vol. 30, (4), 2016.
- [2] Sandgren A, Strong M, Muthukrishnan P, Weiner BK, Church GM, Murray MB. Tuberculosis Drug Resistance Mutation Database. *PLOS Medicine*, vol. 6, 2009.
- [3] Koul A, Arnoult E, Lounis N, Guillemont J, Andries K. The challenge of new drug discovery for tuberculosis. *Nature*, vol. 469, 2011, pp. 483-490.
- [4] Sun P, Liu Y, Sha J, Zhang Z, Tu Q, Chen P, Wang J. High-throughput microfluidic system for long-term bacterial colony monitoring and antibiotic testing in zero-flow environments. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 26, 2011, pp. 1993-1999.
- [5] R Mohan R, Mukherjee A, Sevgen SE, Sanpitakseree C, Lee J, Schroeder CM, Kenis P. A multiplexed microfluidic platform for rapid antibiotic susceptibility testing. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 49, 2013, pp. 118-125.
- [6] Gupta S, Ramesh K, Ahmed S, Kakkar V. Lab-on-Chip Technology: A Review on Design Trends and Future Scope in Biomedical Applications. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, vol. 8, 2016, pp. 311-322.
- [7] Delincé MJ, Bureau J, López-Jiménez AT, Cosson P, Soldati T, McKinney JD. A microfluidic cell-trapping device for single-cell tracking of host-microbe interactions. *Lab on a Chip*, vol. 16, 2016, pp. 3276-3285.
- [8] Xia Y, Whitesides GM. Soft lithography. *Annual Review of Materials Science*, vol. 28, 1998, pp. 153-184.
- [9] G Dhar N, Manina G. Single-Cell Analysis of Mycobacteria Using Microfluidics and Time-Lapse Microscopy. In: Parish T, Roberts DM, editors. *Mycobacteria Protocols*. Springer New York; 2015, pp. 241-256.
- [10] Hett EC, Rubin EJ. Bacterial Growth and Cell Division: a Mycobacterial Perspective. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol.72, 2008, pp. 126-156.

Gait analysis of knee osteoarthritis patients using DyCare Lynx

D. Rodríguez Rodríguez¹, M. Nuevo Gayoso², S. Prat Fabregat³, M. Puig Vidal⁴, R. Jauregui Telleria⁵

¹ Universitat de Barcelona, Barcelona, España, drodrir34@alumnes.ub.edu

² ICEMEQ, Hospital Clínic, Barcelona, España, mnuevo@clinic.cat

³ ICEMEQ, Hospital Clínic; Universitat de Barcelona; Barcelona, España; SPRAT@clinic.cat

⁴ Departament d'Enginyeria Electrònica i Biomèdica, Universitat de Barcelona, Barcelona, España, manel.puig@ub.edu

⁵ DyCare, Barcelona, España, ricardo.jauregui@dycare.com

Abstract

Osteoarthritis, and knee osteoarthritis in particular, is one of the most prevalent diseases in the elderly. A system based on Inertial Measurement Units, DyCare Lynx, was chosen to carry out a preliminary clinical study, in collaboration with Hospital Clínic, aiming to compare the gait patterns of 3 groups conformed by 10 volunteers each: young healthy adults, elderly healthy adults and elderly adults diagnosed with knee osteoarthritis.

It has been demonstrated that the combination of a sensor on the thigh and another on the shank can detect statistically significant differences between knee osteoarthritis patients and healthy elderly volunteers, the former having 10° shorter angle peaks in stance and swing. Healthy young and elderly adults walk in the same manner, statistically.

Monitoring of physiotherapy with an objective system like this, more reliable than current subjective tools, could potentially make the treatment more effective, ultimately avoid knee arthroplasty and therefore increase quality of life.

1. Introduction

Population pyramids are progressively taking the shape of a roman jar all around the world due to large life expectancy and declining birth rates, even those of some underdeveloped countries [1, 2]. Thus, prevalent diseases in older people will be likely to become more prevalent in society in general.

Osteoarthritis, the degradation of the cartilage and subchondral bone in a joint, is one of the diseases that relates the most to disability and old age. A product of recurrent physical forces, chemical imbalances and genetic predisposition produces lesions, wear, tear and extrusion on the bone. It can affect any joint, but knee osteoarthritis (hereinafter referred as KOA) is among the most common types. 13% of women and 10% of men above 60 years old suffer from knee OA, worldwide [3].

Nowadays, clinicians lack objective and reliable tools to measure movement. In fact, joint motion analysis for diagnosis or monitorization of muscle-skeletal injuries or diseases currently relies on subjective measurements performed using a goniometer. Because of this need, DyCare® developed a portable system, DyCare Lynx, based on two inertial sensors that objectively measure joint 3D mobility in real time. The aim of this device is to support the clinicians in their decisions, providing critical and accurate information of the joints mobility during and after the performance of the movement by the patient. Using DyCare Lynx, the evolution of the treatment of the

patient could be evaluated on a periodic basis, allowing a better assessment of the rehabilitation and thus increasing recovery efficiency.

The main advantage of DyCare Lynx against optical systems, considered the gold standard of 3D motion analysis which it has been compared before, is that it does not need a complex equipment and therefore it can achieve a result faster, cheaper, easier and with no space limitations.

The pattern for a typical step of a subject suffering from knee osteoarthritis using inertial sensing has been reported several times before. Literature for how KOA patients' gait differs from healthy people, however, is scarce. A very relevant study by McCarthy et al aimed to analyze how knee flexion changed with KOA [4]. To do so, they gathered KOA patients and healthy subjects among the 60-80 age interval and placed two inertial sensors in each leg (thigh and shank). The stride profiles suggested stance ROM could discriminate between healthy and KOA subjects, while there was too much overlap in swing ROM to discriminate. Additionally, KOA patients walked more slowly, which was supported by previous literature, though it was not statistically significant.

McCarthy later supervised a more ambitious study related to the evolution of the gait of KOA patients after a total knee arthroplasty [5]. For that aim, they tested pre-op, 8-week post-op and 52-week post-op patients and 29 healthy elderly for control, with inertial sensors on the thigh and the shank. They pointed out again the difference in the stance ROM in knee flexion. Although there was an observable improvement on 52-week post-op patients, there was still a notable difference with the control, but it showed differences between groups could be detected and their evolution could be tracked too.

With this knowledge in mind, the aim of the present study was to assess the viability of using DyCare Lynx to analyze gait patterns and detect which differences are present between healthy young volunteers, healthy elderly volunteers and KOA patients and to find out if a simple short gait test, preferably obtained with just one sensor, is enough to detect such differences.

2. Methodology

All 30 volunteers were measured from October to December 2017. The Young Healthy volunteers gathered

were 6 men and 4 women with a mean age of 31.00 ± 10.02 years old. The Elderly Healthy group was comprised of 6 men and 4 women with a mean age of 68.70 ± 7.56 years old; the exclusion criteria included ongoing knee problems, severe hip problems and operated knees (< 7 years ago). The KOA group was conformed by 6 women and 4 men with a mean age of 69.20 ± 8.39 years old.



Figure 1. Sensor positioning: thigh and shank

Every day the sensors (shown in Fig. 1) were used, the sensors were calibrated at the beginning. Two sensors were placed on each of the subjects' legs, with straps or bio-adhesives, aligned and pointing to the proximal direction (Fig. 2). For the first one, the greater trochanter of the femur was identified and, from there, the flattest part of the lateral side of the thigh (*vastus lateralis*) was found and selected for sensor positioning. For the other sensor, the area where the anterior part of the tibia is flatter (the shin) was identified and then the sensor was placed on the lateral part of the shank at that same height.

The sensor positioning (Fig. 1) allows to measure the knee angle in the sagittal plane by taking the relative angle between the sensors in the sagittal plane (two sensors), and the shank angle by just taking data from the shank sensor.

Each subject was asked to stay still at the beginning, straightening their legs as much as possible without pain to take the subject's zero angle. The subject was made to walk between 8 and 12 m at their normal pace. In total, three measurements per leg were taken at a frequency of 102.4 Hz and exported to json files, which included both the information for the knee angles and the shank angles.

Python algorithms were developed to process the signals obtained, involving peak detection and cycle fragmentation. To successfully obtain the representative step of an individual during gait, it was decided that cubic interpolation would be applied to make all cycles from the different measurements of a subject to have the same number of samples, the mean length of the cycles. With a constant gait speed, the samples of each cycle are similar and so they are minimally distorted by interpolation. The standard deviation (SD) at each point of the signal and the area comprised between the standard deviation lines i.e. the variability of the whole movement (V) were computed, along with the Range of Movement (ROM). Then, all mean cycles in a group were used to obtain the representative cycle of the group.

Stride duration, SD area and the angle at each point of the representative cycle were statistically compared (Young Healthy vs Elderly Healthy and Elderly Healthy vs KOA Patients). Levene's test was first used to test the equality of variance of the populations, which was then used to test the equality of the means with Student's t-test (assumes equal variance) or Welch's t-test. The p-value thresholds to assume equality in both tests was set to the standard 0.05.

3. Results and Discussion

3.1. Young Healthy vs Elderly Healthy Adults

For the sake of describing the patterns, the young healthy stride profile will be used (yellow profiles in Fig. 2A-2B).

The heel-strike marks the beginning of the stance phase. It corresponds to roughly 0° in knee flexion (the leg is practically straight) and -37.61° in shank angle (with reference to the vertical axis). As the rest of the foot goes down, the shank straightens which increases knee flexion but decreases shank angle.

In the support subphase of stance, the foot is completely touching the floor and does not move. At the beginning of this subphase, knee flexion is at 28.72° . The other foot is advancing, thus straightening the thigh and reducing flexion, creating a valley in the signal. In shank angle, this subphase is characterized by a smoother increase since the dominant movement is done by the thigh, crossing the zero angle.

When the foot proceeds to take off the ground, the toe-off subphase starts. The leg is quite straightened, hence the minimum in knee flexion, but just before taking off the flexion slightly increases. The shank angle increases because it strays away from the zero angle.

The leg lift is the beginning of the swing phase. Knee flexion progressively increases as the leg is lifted. At the end, a flexion peak of 74.45° can be seen. In shank angle, a peak of 39.8° is produced slightly before the knee peak, mirroring the -37.61° of the heel-strike.

When the leg is being propelled forward, knee flexion is lost at the same rate that was been gained in the leg lift and gets closer to zero, where the leg is almost straightened and the heel strikes the floor, which starts another gait cycle. In shank angle, the loss of angle is very similar, which contrasts the upwards sigmoidal portion of the signal.

The knee flexion pattern is visually similar to the results obtained in Rahman et al [5], 2013, though our stance and swing peaks are roughly 10° higher (19.82° vs 29.29° and 62.63° vs 74.31° , respectively). The shank angle pattern is harder to compare since Rahman's signal is reversed and the angle corresponding to the maximum during swing is considered as the zero. However, the total ROM is similar (76.60° vs 78.45°) but it cannot be statistically tested due to the lack of access to Rahman's raw data.

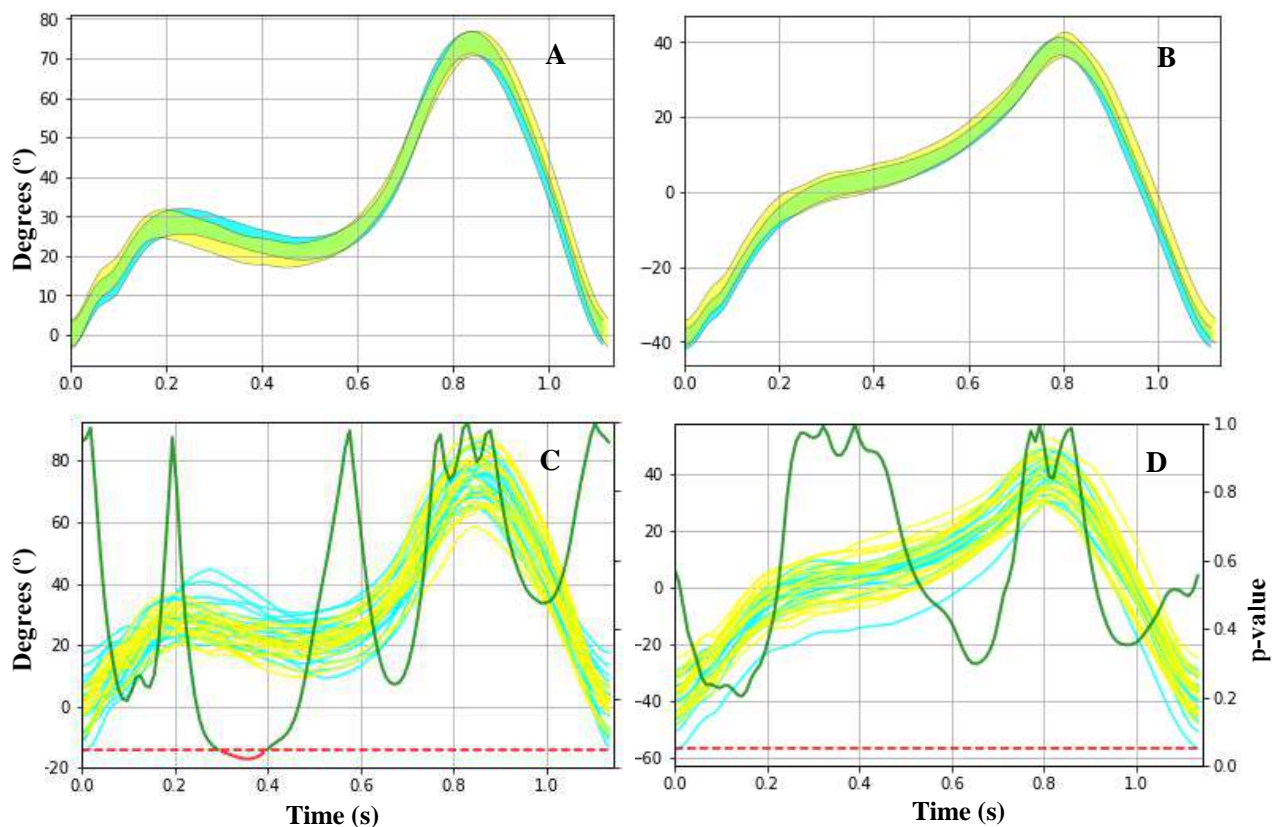


Figure 2. Gait patterns of Young Healthy volunteers (YH) in yellow and Elderly Healthy volunteers (EH) in cyan, overlap in green. Top-left (A): knee flexion; $V=7.75\pm 2.17$ and $ROM=74.45\pm 7.72^\circ$ for YH, $V=7.08\pm 1.51$ and $ROM=74.31\pm 9.41^\circ$ for EH. Top-right (B): shank angle; $V=7.62\pm 2.04$ and $ROM=77.42\pm 6.11^\circ$ for YH, $V=5.89\pm 1.68$ and $ROM=78.45\pm 9.13^\circ$ for EH. Bottom-left (C): t-test results for knee flexion. $P\text{-value}<0.05$ before toe-off phase. Bottom-right (D): t-test results for shank angle. $P\text{-value}=0.05$ threshold is not crossed.

Internally, we can compare the patterns obtained to the Young Healthy reference, which overlap a great deal both in the shank angle and knee angle profiles (Fig. 2A-2B). We can state that there are no statistical differences in mean stride duration: the Young Healthy group has a mean duration of 1.14s for the two profiles while the Elderly Healthy group has a duration of 1.13s and the p-value of the t-test is 0.73, far above the 0.05 threshold. As for the SD area, the t-test suggests there is not a significant difference between young and elderly in the knee angle measurements (means of 7.75 and 7.08 respectively, p-value of 0.28) but there is in the case of the shank angle measurements (means of 7.62 and 5.89, p-value of 0.01).

Regarding differences in the whole signal, the iterative t-test does not detect significant differences in any configuration except for a small portion of the Support subphase in knee flexion. That means young healthy people walks very similarly to elderly healthy people, contrary to what one may think. The interpolated cycles from the subjects that were used for the test can be seen in Fig. 2C-2D, for knee flexion and shank angle respectively. On the same figures, the y-axis on the right is used for displaying the p-values along the signal. The 0.05 threshold is indicated with a red dashed line; p-values equal to or below 0.05 appear as red.

3.2. Elderly Healthy Adults vs KOA Patients

The patterns for knee flexion (2 sensors) and shank angle (1 sensor) generated from these 10 subjects are shown in Fig. 3A-3B, respectively. We can see the mean stride time is KOA patients is longer than in healthy elderly (1.16 vs 1.13 seconds) and the mean ROMs are reduced in both configurations, both in the stance (21.11° vs 29.29°) and swing (66.2° vs 74.31°) peaks of knee flexion and general ROM in shank angle (71.03° vs 78.45°). The results of the t-tests suggest, though, that stride times are not significantly different since the p-value is of 0.45. Also, it is observable that shank angle does not change much with respect to the reference during support, but knee flexion is maintained instead of drawing a valley, which could be the result of an immobilization of the thigh in KOA patients.

The results of the iterative t-tests can be viewed in Figures 3C-3D. This time, the p-values indicate a clear statistical difference in stance and swing between the groups in knee flexion, even reaching null values. Though, some KOA cycles overlap Elderly Healthy cycles. The results for the shank angle t-test are quite different: there is only statistical difference in the positive peak, though the Support subphase gives very low p-values too, around 0.1, which indicate a not so strong difference, which can be seen in the big overlap. This suggests that, even though using just 1 sensor could pose logistic advantages in daily clinical routine, using 2 sensors can help differentiate between healthy and osteoarthritic with much better results.

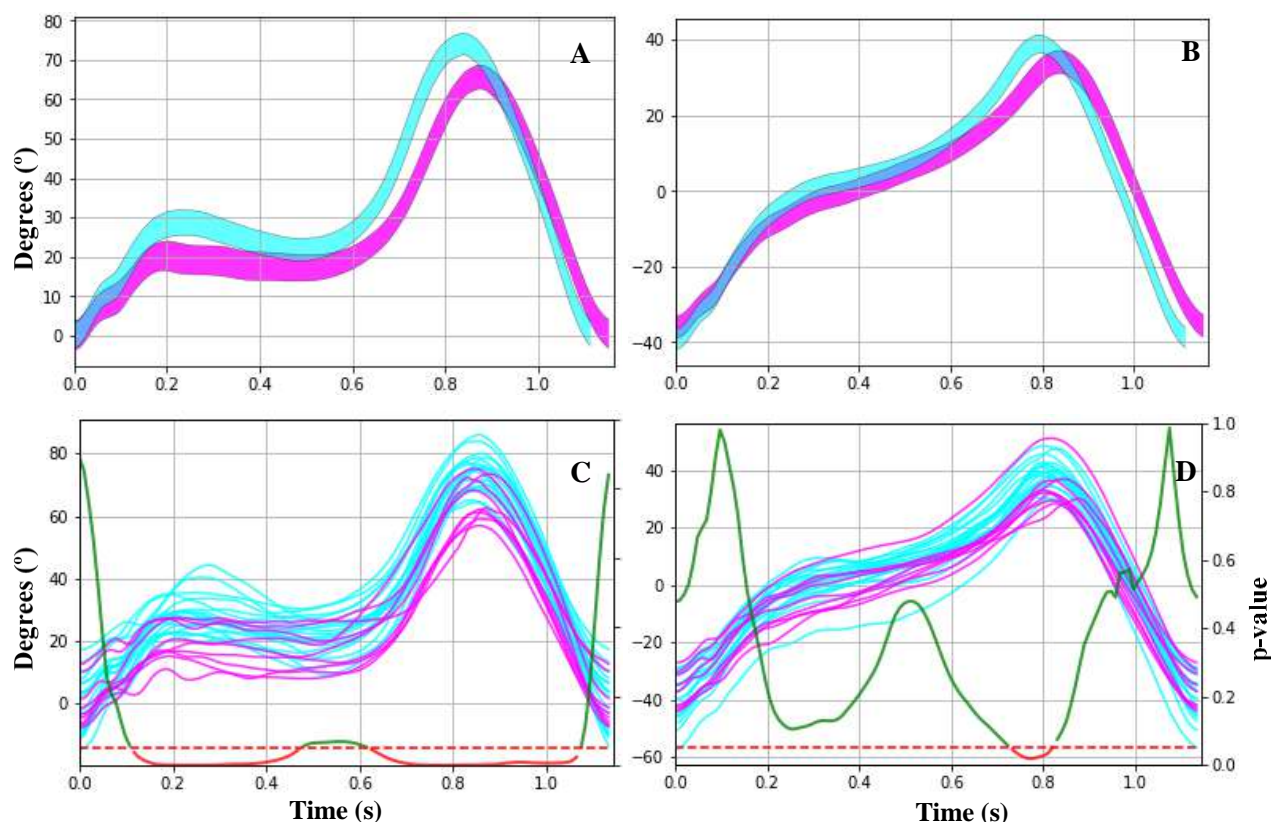


Figure 3. Gait patterns of Elderly Healthy volunteers (EH) in cyan and KOA patients (KP) in magenta, overlap in blue. Top-left (A): knee flexion; $V=7.08\pm 1.51$ and $ROM=74.31\pm 9.41^\circ$ for EH, $V=8.21\pm 3.1$ and $ROM=66.2\pm 7.82^\circ$ for KP. Top-right (B): shank angle; $V=5.89\pm 1.68$ and $ROM=78.45\pm 9.13^\circ$ for EH, $V=6.76\pm 2.74$ and $ROM=71.03\pm 6.66^\circ$ for KP. Bottom-left (C): t-test results for knee flexion. P-value < 0.05 in most of stance and swing phases. Bottom-right (D): t-test results for shank angle. P-value < 0.05 in the swing peak.

As for the SD area, in knee flexion there is an increase from 7.08 to 8.21 with respect to the Elderly Healthy group, though the p-value from the t-test, 0.21, does not suggest a significant difference. The case is similar for shank angle, since there is an increase from 5.89 to 6.76, but the 0.39 p-value does not suggest a difference either. Due to the statistical insignificance and the anti-intuitive results of the t-test between the Young Healthy and the Elderly Healthy groups, the variability indicator has not proved to be a reliable parameter for detecting differences.

4. Conclusions

The study has demonstrated that the inertial-based motion analysis system DyCare-Lynx is able to discriminate healthy and KOA patient with knee flexion, measured with a sensor on the thigh and another on the shank. The developed code generates understandable gait patterns for individual subjects and groups of subjects that can easily be compared to each other. This predicts a good market niche for inertial-based systems in clinical environments that cannot and do not need to spend high amounts of money on specialized labs that use optical systems for physiotherapy monitorization. However, a shift in focus exercise to stair descent, which is harder for KOA patients, is highly recommended to improve monitorization or even achieve early knee osteoarthritis detection, since both

could potentially make treatment more effective and ultimately avoid knee arthroplasty.

A world with an ageing population demands that the tools start changing to improve quality of life and desaturate healthcare, and the versatility and objectivity of inertial-based motion analysis systems can satisfy *Bottom-right* this.

References

- [1] World Health Organization, "World report on ageing and health," Luxembourg, 2015. (ISBN: 9789241565042)
- [2] United Nations, "World Population Ageing 2015," New York, 2015. (ISBN: 9789211515398)
- [3] B. Heidari, "Knee osteoarthritis prevalence, risk factors, pathogenesis and features: Part I.," *Casp. J. Intern. Med.*, vol. 2, no. 2, pp. 205–12, 2011.
- [4] I. McCarthy, D. Hodgins, A. Mor, A. Elbaz, and G. Segal, "Analysis of knee flexion characteristics and how they alter with the onset of knee osteoarthritis: a case control study.," *BMC Musculoskelet. Disord.*, vol. 14, no. 1, p. 169, 2013.
- [5] J. Rahman, Q. Tang, M. Monda, J. Miles, and I. McCarthy, "Gait assessment as a functional outcome measure in total knee arthroplasty: a cross-sectional study.," *BMC Musculoskelet. Disord.*, vol. 16, p. 66, 2015.

Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) assessment of iron oxidation states of nanoparticle clusters of amyloid cores of Alzheimer's Disease

A. Fajas-Majó¹, P. Torruella¹, J. Blanco¹, M. Mir², J. Samitier², D. Ros³, S. Estradé¹, F. Peiró¹

¹ LENS-MIND, Departament d'enginyeries: Electrònica i Biomèdica, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. {alexfajasm, ptorruella, sestrade, jblanco, francesca.peiro}@ub.edu

² Nanobioengineering Group, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain {mmir, jsamitier}@ibecbarcelona.eu

³Unitat Biofísica i Bioenginyeria, Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona, Spain {dros@ub.edu}

Abstract

The main pathogenic mechanism of Alzheimer's Disease (AD) is the abnormal accumulation of β -amyloid plaque cores (APC) but this fails to fully explain the disease characteristics. Regional increase of iron levels and presence of abnormal Fe^{2+} , a toxic ion due to oxidative stress generation capacity, have been detected in AD patients. Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) was used to acquire data from in vitro synthesized iron nanoparticle-containing amyloid samples. Several procedures based on Principal Component Analysis (PCA), Blind Source Separation (BSS), hierarchical clustering and other feature extraction techniques were used to process the acquired data to identify the presence Fe^{2+} and Fe^{3+} ions and to observe their distribution. Results proved that BSS is capable of identifying EELS contributions of iron ions and discriminate among different oxidation states providing physical information of the sample composition as well as that clustering is a useful technique to generate maps of sample composition and understand its structure.

Results suggested a general structure for the iron nanoparticle agglomerates contained in APCs; a core/shell structure with maghemite (Fe_2O_3) in their inner regions and magnetite (Fe_3O_4) in their periphery. The structure described is compatible with the pathological mechanisms in which Fe^{2+} might take part. The medical implications of such findings in diagnostics and therapeutics are discussed.

1. Introduction and motivation

Alzheimer's Disease (AD) is one of the main unsolved medical problems of our days since AD is a chronic neurodegenerative disease with high prevalence and the main cause of dementia among the elderly [1].

The pathogenic mechanisms of AD are complex and still not completely understood. However, since the Discovery of amyloid plaque cores (APC) and tau tangles, more and more information about AD pathogenicity has been detailed. It is now accepted that the main pathogenic mechanism of AD is the abnormal accumulation of APC which causes neural damage and leads the progression of the disease [2].

This mechanism, however, fails to fully explain the characteristics of AD and thus, other mechanisms are being explored. One of such approaches has to do with the regional increase of iron ions levels in the brain of AD patients, mainly in the form of magnetite (Fe_2O_3) [3]. Iron

presence is needed for good neural function since it is believed to play an important role in processes like neural differentiation, myelination and neural plasticity, and a lack of it has been observed to lead to cognitive impairment and neural dysfunction [4]. However, brain iron is usually present in a redox-inactive state (Fe^{3+}) while magnetite contains redox-active ions (Fe^{2+}) which are capable of generating oxygen reactive species (ROS) that cause oxidative stress. This oxidative stress generation could cause neural damage and contribute to the progression of AD [5].

To understand the role that iron ions play in AD it is necessary to study the iron oxidations states present in APC and their distribution. A useful tool for this purpose is Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS), a transmission electron microscope based technique which provides compositional and electronic information of chemical species. In particular, metal oxidation states can be determined through observing the characteristic edges in the spectra for each element focusing on their energy-loss near-edge structure (ELNES) that vary among different oxidation states [6]. Fig. 1 shows the L_3 and L_2 edges for Fe^{2+} and Fe^{3+} ions. From the figure it can be seen that the spectra for both ions can be clearly differentiated: the L_3 peak of the Fe^{3+} spectrum presents a shift towards higher energy values and there is also a pre-peak present.

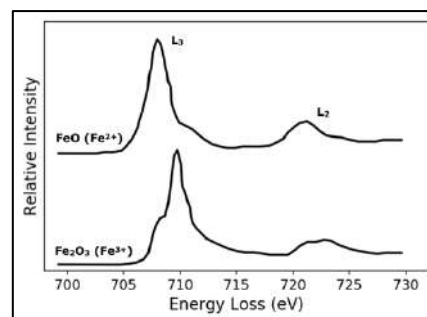


Figure 1. Fe^{2+} and Fe^{3+} EELS reference peaks [7].

Performing EELS on a sample, a Spectrum Image (SI) can be acquired by obtaining an EEL spectrum for each pixel which enables the determination of iron oxidation

state at each pixel giving information about local oxidation states and their distribution [6].

With all this in mind, this study was performed with the objectives of obtaining EELS SI of iron-containing APC samples, establishing a data processing method to identify the iron oxidation state presence and distribution and suggest a possible structure for the iron nanoparticle clusters of APC while discussing their biomedical implications.

2. Methodology

2.1. Sample preparation and imaging

The samples used for this study were *in vitro* models of APC of AD. The preparation of the samples was done by dissolving 0.2mg of A β peptide in 250 μ l of a stabilising solution and the magnetite-A β complex was achieved by addition of 12.5 μ mol of FeCl $_3$ · 6H $_2$ O, containing Fe $^{3+}$ and 6.25 μ mol of FeCl $_2$ · 4H $_2$ O, containing Fe $^{2+}$ [8]. The preparation of the samples for TEM observation consisted in depositing 20 μ l of the prepared solutions on a copper grid with carbon. The samples were left to evaporate at room temperature.

Two sets of SI were obtained. The first set was obtained using a JEOL 2010F microscope and the second one with JEOL ARM instrument. In all cases in STEM-EELS mode and with an electron beam voltage of 200 kV.

2.2. Data pre-processing and noise reduction

Data pre-processing mainly consisted in the 670-770 eV energy-loss range selection, the region where the iron peaks are present, background removal and noise reduction by means of dark reference correction and Principal Component Analysis (PCA): only the first relevant PCA components were selected to reconstruct the signal eliminating, thus, most of the variability due to noise [9].

2.3. Data processing methods

Three main data processing approaches were used. The first one consisted in Blind Source Separation (BSS) by means of Independent Component Analysis (ICA). ICA is a multivariate analysis technique that splits the original signal into different components that maximise statistical independence. For this study, ICA should be expected to find a minimum of two independent components: the ones corresponding to the Fe $^{2+}$ and Fe $^{3+}$ different spectra. The FastICA algorithm was implemented [10]. The loadings obtained from the different components were used to observe the distribution of ion contributions in the sample.

The second data processing approach consisted in agglomerative hierarchical clustering applied to the spectra measured at each pixel. Agglomerative hierarchical clustering is a tool used in data science that aims to group many observations – in this case, pixels – according to their similarity into a defined number of final groups [11]. The final number of clusters was determined by means of distance threshold selection. Clustering was

performed with different number of final groups to assess the best number of final clusters as well as the effect of different threshold selections. It was also performed with raw data and with pre-processed data. The results of pixel classification into clusters were represented in pixel distribution maps of the sample to identify different regions within it.

The final data processing approach consisted in L $_3$ pre-peak integration. The spectrum signals were integrated at the energy range of 700-710 eV. This is the range where the pre-peak of the L $_3$ edge of Fe $^{3+}$ ions is found. Integrating this region should yield higher integration results for those spectra with pre-peak in comparison to those without it. In other words, Fe $^{3+}$ contribution in a pixel should result in higher integration values [6]. This approach was only used with the second set of SIs.

3. Results

3.1. APC imaging and visualisation

Fig. 2 presents two representative images obtained with High Angle Annular Dark Field (HAADF) imaging mode of the iron-containing amyloid samples. The green squares highlighted on the images correspond to the regions where EELS was performed and from where SIs were obtained.

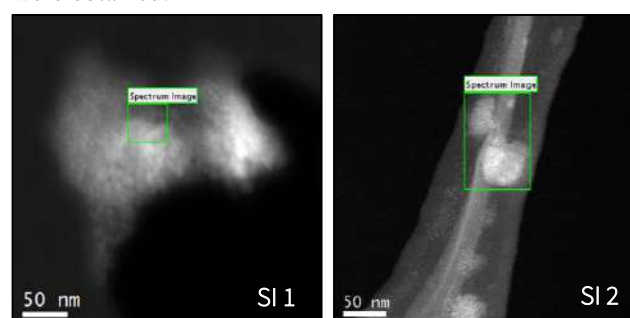


Figure 2. HAADF images of APCs and location of the SIs acquisition area.

3.2. Results of BSS and ICA

The ICA results found for the first SI were satisfactory (Fig. 3). As it can be observed in Figure 3A, two relevant components were identified and these two can be immediately related to Fe $^{2+}$ and Fe $^{3+}$ reference spectra: the first component (C1) corresponds to Fe $^{2+}$ contribution and the second component (C2) clearly has a shift toward higher energy-loss values, corresponding to Fe $^{3+}$ contributions. The score maps for C1 and C2 (Fig. 3B and 3C) enable the identification of a Fe $^{3+}$ -rich region in the lower half of the SI and specially in the bottom left corner and a Fe $^{2+}$ -rich stripe in the centre of the SI that continues to a wave-shaped structure on the right.

ICA results for the second sample were not conclusive since only one relevant component was identified. This component is a combination of Fe $^{2+}$ and Fe $^{3+}$ contributions and it only highlights the regions where iron ions are present but it does not allow to discriminate among oxidation states (Fig. 4).

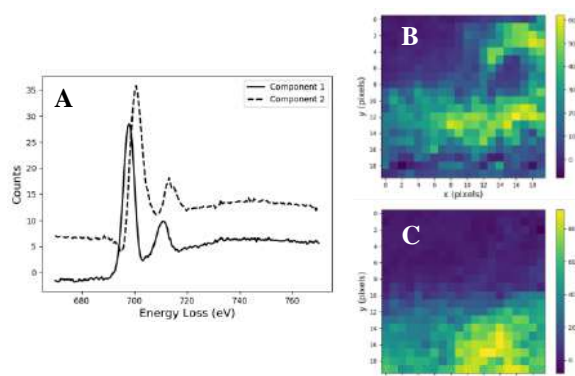


Figure 3. ICA results of SI 1. A) Identified components. B) Score map of C1 corresponding to Fe^{2+} . C) Score map of C2 corresponding to Fe^{3+} .

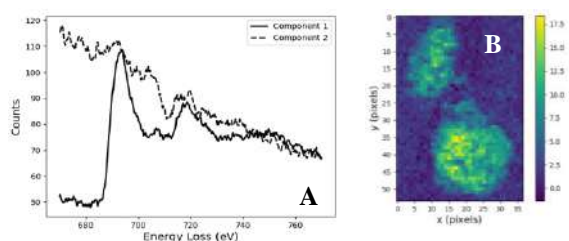


Figure 4. ICA results of SI 2. A) Identified components. B) Score map of C1 corresponding to iron presence in any oxidation state.

3.3. Results of agglomerative hierarchical clustering

Results of agglomerative hierarchical clustering were better using the raw data instead of the pre-processed data. The results for SI 1 show that the same regions identified by means of ICA are distinguished. The optimal results were obtained using 5 pixel groups which allow the visualisation of edges and transition regions as well as the wave-like shape (Fig. 5A).

The results for SI 2 were optimised using a number of 3 final clusters. In this case it can be observed that, although not in a uniform way, the pixels have been classified differently in the centre of the iron structures and in the periphery, suggesting a centre/periphery structure for the iron oxidation states (Fig. 5B). This results, however, do not give information about which iron ion is found in the centre and which in the periphery.

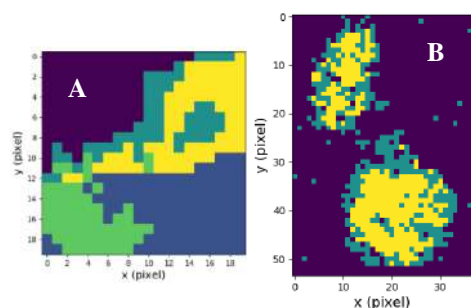


Figure 5. Agglomerative hierarchical clustering results. A) SI 1. B) SI 2.

3.4. Results of pre-peak integration

Pre-peak integration was only performed in SI 2 to assess the iron oxidation state in the two different regions identified. Results are presented in Fig. 6 in a continuous

way and discretised (classified into three groups). It can be seen that the higher integration values are present in the centre of the nanoparticle agglomerates showing that Fe^{3+} ions are present in the centre of the iron structure while Fe^{2+} are present in the periphery.

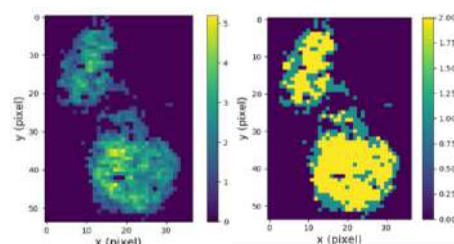


Figure 6. SI 2 pre-peak integration results presented in a continuous (left) and discretised (right) manner.

4. Discussion

4.1. Validity of the data processing methods used

The different data processing methods described and used for this study have been all useful and adequate since they provided the expected results in most occasions. However, the most convenient combination of data processing techniques could be identified as the combination of ICA and clustering. ICA is capable of clearly identifying the presence of iron ions and their oxidation state and give an idea of their distribution while clustering excels at representing a unified map of the distribution of compositions while it also offers the possibility of observing the pixel classification with different sensibilities according to the number of final groups selected.

Furthermore, it is also useful to have the pre-peak integration tool when more problematic data is encountered whose composition cannot be fully analysed with ICA. An alternative way to work with this type of data could be using the average spectra for each of the clusters obtained with clustering [12].

4.2. Iron nanoparticle aggregates structure

All the results described above proved that the iron nanoparticles, grouped in clusters or aggregates, contained in APCs present the expected and physiologically common Fe^{3+} ion as well as potentially pathogenic Fe^{2+} ions in their composition. Furthermore, the maps presented and their correlation with physical information obtained from ICA and pre-peak integration consistently suggest that iron nanoparticle aggregates have a definite structure with Fe^{3+} ions, most likely in the shape of maghemite or ferrihydrite, in their core with a thin shell containing Fe^{2+} ions, as well as some contribution of Fe^{3+} ions, unveiling a more than likely magnetite composition.

However, some inconclusive results, mainly using ICA, have also been presented. This suggests that the differences in composition are small. This fact should push towards higher sensitivity characterisation which could enable identifications of finer structures or transition regions. Also, the next step in iron structure characterisation should consist in performing EELS

tomography [12] to reconstruct the 3D structure of the nanoparticle aggregates.

4.3. Biomedical implications of the results

The obtained results support the proposed pathogenic mechanism for Fe^{2+} ions since their presence has not only been checked but their location at the outer shells of APC iron structures assessed. Their being in the outside of the aggregates, generates a free interface in which Fe^{2+} ions can interact with hydrogen peroxide to generate ROS via the Fenton reaction. This fact should have been discarded in case the Fe^{2+} ions had not been present or had been located in the inner core of the nanoparticle aggregates. Also, the observed structure is coherent with the suggested role of amyloid as a catalyser to promote magnetite formation [13]: Fe^{2+} ions in contact with amyloid could be reduced to Fe^{3+} giving rise to the magnetite composition found in the iron periphery.

The described results could also lead to important medical applications. The first one could be in the field of diagnosis since magnetic resonance imaging (MRI) is able to detect low amounts of magnetite [14]. Resolution is still not good enough but constant improving and the increased concentration in AD patients could lead to the development of MRI as an AD diagnostic tool. Another interesting application could be in the field of therapeutics: using Fe^{2+} ion chelators. Chelators are metallic ion bonding molecules that are able to change the ion properties. Chelation is of special interest because it has the potential to prevent iron-induced ROS generation, rendering these ions redox-inactive and harshly reducing their contribution in AD pathology [15].

5. Conclusions

In this study the structure the composition and structure of the iron nanoparticle aggregates found in APCs of AD patients has been tackled. The tools used for this purpose were EELS data acquisition and processing – by means of ICA, clustering and pre-peak integration, methods that could be used for other biomedical applications – of an *in vitro* model of AD.

The results obtained suggest a possible structure and ion distribution for iron of APCs that consists of a core/shell structure containing maghemite (with Fe^{3+} ions) in the core and magnetite (with Fe^{2+} and Fe^{3+} ions) in its shell. This structure is compatible with the proposed pathogenic mechanism for Fe^{2+} ions. Also, the presence of such ions and their location could have relevant applications in the field of diagnostics (MRI) and therapeutics (metal chelators).

References

- [1] E. Scarpini, P. Schelterns, and H. Feldman, “Treatment of Alzheimer’s disease: current status and new perspectives,” *Lancet Neurol*, vol. 2, no. 9, pp. 539–547, 2003.
- [2] J. Hardy and D. J. Selkoe, “The Amyloid Hypothesis of Alzheimer’s Disease: Progress and Problems on the Road to The Amyloid Hypothesis of Alzheimer Progress and Problems on the Road to Therapeutics.,” *Science (80-.)*, vol. 297, no. 5580, pp. 353–356, 2002.
- [3] Q. Pankhurst, D. Hautot, N. Khan, and J. Dobson, “Increased levels of magnetic iron compounds in Alzheimer’s Disease,” *J. Alzheimers Dis. JAD*, vol. 13, no. 1, pp. 49–52, 2008.
- [4] P. Muñoz and A. Humeres, “Iron deficiency on neuronal function,” *BioMetals*, vol. 25, no. 4, pp. 825–835, 2012.
- [5] M. Smith *et al.*, “Increased Iron and Free Radical Generation in Preclinical Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment,” *J. Alzheimer’s Dis.*, vol. 19, no. 1, pp. 363–372, 2010.
- [6] S. Estradé, “Electron Energy Loss Spectroscopy Solutions for Nanoscale Materials Science Problems,” *PhD Thesis*, 2008.
- [7] L. A. J. Garvie and P. R. Buseck, “Ratios of ferrous to ferric iron from nanometre-sized areas in minerals,” *Nature*, vol. 396, no. 6712, pp. 667–670, 1998.
- [8] S. Teller, I. B. Tahirbegi, M. Mir, J. Samitier, and J. Soriano, “Magnetite-Amyloid- β deteriorates activity and functional organization in an *in vitro* model for Alzheimer’s disease,” *Sci. Rep.*, vol. 5, no. November, pp. 1–16, 2015.
- [9] I. T. Jolliffe, *Principal Component Analysis, Second Edition*, vol. 30, no. 3. 2002.
- [10] Hyvärinen and Oja, “Independent component analysis: algorithms and applications.,” *Neural networks*, vol. 13, no. 4–5, pp. 411–430, 2000.
- [11] P. Torruella *et al.*, “Clustering analysis strategies for electron energy loss spectroscopy (EELS),” *Ultramicroscopy*, vol. 185, pp. 42–48, 2018.
- [12] P. Torruella *et al.*, “3D Visualization of the Iron Oxidation State in $\text{FeO}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ Core-Shell Nanocubes from Electron Energy Loss Tomography,” *Nano Lett.*, vol. 16, no. 8, pp. 5068– 5073, 2016.
- [13] I. B. Tahirbegi, W. A. Pardo, M. Alvira, M. Mir, and J. Samitier, “Amyloid A β 42, a promoter of magnetite nanoparticle formation in Alzheimer’s disease,” *Nanotechnology*, vol. 27, no. 46, pp. 1–7, 2016.
- [14] H. Pardoe *et al.* “Detection limits for ferrimagnetic particle concentrations using magnetic resonance imaging,” *J. Phys Med. Bio*, vol. 48, no. 6, pp. 89-95, 2003.
- [15] L. Zecca, M. B. H. Youdim, P. Riederer, J. R. Connor, and R. R. Crichton, “Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders,” *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 5, no. 11, pp. 863–873, 2004.

Clasificación automática de planos ecográficos en ecografías prenatales

V. Pérez Gregori¹, J. Sabrià², R. Benítez¹

¹ Departamento de Ingeniería de Sistemas, Automática e Informática Industrial, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, raul.benitez@upc.edu

² Servicio de Obstetricia, Hospital de Sant Joan de Déu, Barcelona, España

Resumen

La aplicación de técnicas de inteligencia artificial se ha consolidado como una herramienta de gran valor para el reconocimiento de patrones en imágenes biomédicas. En este estudio se utilizan técnicas de aprendizaje profundo para la clasificación automática de planos ecográficos en imágenes obtenidas durante la sesión de ecografía prenatal del primer trimestre. En el estudio se validan diferentes enfoques para la extracción de características y su posterior clasificación mediante técnicas de aprendizaje automático. Los resultados obtenidos se han aplicado a una base de datos con 1506 imágenes y permiten un reconocimiento de los tres planos ecográficos más relevantes con una eficacia promedio del 94.6%.

1. Introducción: Reconocimiento de patrones en imágenes ecográficas

El proceso de estudio de la viabilidad fetal constituye una tarea rutinaria con una gran carga de trabajo por parte de profesionales sanitarios altamente cualificados. La ecografía es el método de cribado y seguimiento prenatal utilizado de forma generalizada en la actualidad. Se trata de una tecnología no invasiva que permite verificar la viabilidad del feto y la realización de un seguimiento a lo largo de su proceso de desarrollo. El presente trabajo se centra en el reconocimiento automático de planos ecográficos de la sesión ecográfica que se realiza de forma rutinaria durante el primer trimestre de gestación. Esta sesión permite obtener los biomarcadores más relevantes para la viabilidad y estado de desarrollo fetal. En particular, el objetivo es el reconocimiento automático de los tres cortes biométricos fetales de mayor relevancia clínica: BPD (Diámetro Biparietal), CLR (Longitud Cráneo-caudal) y NT (Translucencia Nucal).

La herramienta desarrollada tiene como objetivo reducir las tareas repetitivas por parte del profesional sanitario permitiendo que se centren en la realización de tareas diagnósticas y de interpretación clínica. El método ha sido desarrollado mediante la aplicación de técnicas de reconocimiento de patrones e inteligencia artificial [1,2,3]. En particular, en este trabajo se han utilizado técnicas de aprendizaje profundo [11]. La principal ventaja de estas técnicas frente a otros enfoques tradicionales basados en la extracción de características seleccionadas en base a un criterio clínico- es que permiten la extracción no-supervisada de un conjunto de atributos mediante la

aplicación de redes neuronales convolucionales. El desarrollo de dichos modelos requiere de una base de datos de imágenes previamente etiquetadas por parte de un experto. La base de datos debe ser suficientemente representativa de la variabilidad existente en los patrones observados. En el caso particular de modelos de clasificación basados en aprendizaje profundo el número de imágenes necesarias suele ser elevado, típicamente del orden de miles de imágenes por clase [4,5,6]. Las técnicas suelen comportar un elevado coste computacional, pero a menudo permiten superar las prestaciones alcanzadas con métodos tradicionales.

Diversos estudios han aplicado previamente las técnicas de aprendizaje profundo al ámbito específico de las imágenes ecográficas. En [7], se desarrolla un modelo para reconocer si un nódulo tiroideo es benigno o maligno que permite un reconocimiento automático con una sensibilidad de 92%, una especificidad del 76% y una eficacia de 85%.

En este otro estudio [8], los autores construyen un modelo capaz de identificar las diferentes partes de la anatomía humana de un embrión a partir de imágenes ecográficas tomadas durante todo el proceso de gestación. A pesar de la complejidad de un problema de clasificación multiclase con trece clases imágenes distintas, el uso de técnicas de Aprendizaje Profundo permitió alcanzar para algunas clases efectividades superiores al 80%.

En el ámbito de la clasificación multiclase, también encontramos otros estudios [9][10], cuyo problema se centra concretamente en la detección automática de los planos fetales estándar mediante el uso de aprendizaje profundo. Donde obtienen modelos con una efectividad en la detección alrededor del 87% de los casos.

Una vez constatada la viabilidad de un proyecto de este tipo a través del análisis de los resultados de diversos estudios, decidimos validar diferentes enfoques de aprendizaje automático y diferentes arquitecturas utilizadas de forma habitual en la literatura. El objetivo es decidir qué enfoque es el idóneo en el contexto del problema de reconocimiento de planos ecográficos.

2. Metodología

El objetivo es diseñar un método para clasificar los tres planos biométricos fetales. Para ello se plantean tres etapas:

- Obtención del Conjunto de Imágenes, etapa que comprende los pasos de adquisición de las imágenes, etiquetado y preprocesado.
- Diseño y selección de diferentes sistemas de clasificación basados en modelos de aprendizaje profundo.
- Entrenamiento de los modelos y posterior validación estadística de su rendimiento.

2.1. Base de datos de Imágenes

Uno de los principales requerimientos del aprendizaje profundo es disponer de una base de datos balanceada y representativa, evitando que el modelo resultante pueda otorgar más peso a aquel grupo con mayor presencia de imágenes en el conjunto. En el presente estudio se dispone de un conjunto de datos con un total de 1518 imágenes, con 506 imágenes de las imágenes pertenecientes a cada una de las tres clases BPD, CLR y NT.

A cada imagen se le aplica un preprocesado para eliminar las anotaciones de texto y marcas, reducir el ruido y ajustar la intensidad y unificar las dimensiones. En la Figura 1 se presenta el flujo de trabajo aplicado durante la etapa de preprocesado. El redimensionamiento de la imagen es necesario para hacerlas compatibles con modelos previamente entrenados en otras aplicaciones de visión por computador desarrolladas previamente. La Figura 2 muestra dos imágenes de la clase CLR tomadas directamente de la base de datos original, es decir, sin haber sido preprocesadas. Mientras que la Figura 3 muestra el resultado del preprocesado aplicado a dos imágenes preprocesadas de la base de datos de la clase CLR.

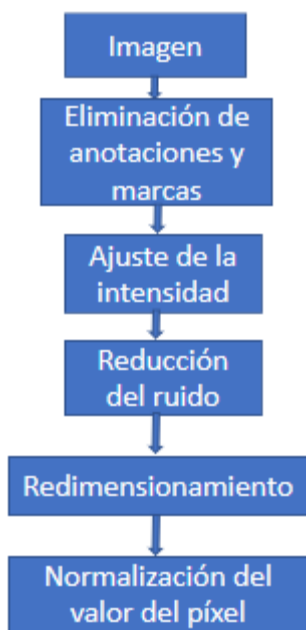


Figura 1. Flujo de trabajo Etapa de preprocesado



Figura 2. Muestras de la clase CLR sin preprocesar



Figura 3. Muestras de la clase CLR preprocesadas

2.2. Elección y diseño de los modelos de aprendizaje automático

Las Redes Neuronales de Convolución (CNN) son las técnicas de aprendizaje profundo indicadas para la resolución de problemas de reconocimiento de patrones en imágenes. Su arquitectura, inspirada vagamente en los trabajos de Hubel y Wiesel sobre los campos visuales receptivos de los mamíferos, está formada por capas interconectadas cuya unidad básica son filtros de convolución que captan la orientación de los objetos. A medida que se van concatenando las diferentes capas en el modelo, la abstracción del mismo aumenta permitiendo discernir entre estructuras cada vez más complejas. Este proceso se describe de forma esquemática en la Figura 4.

La arquitectura consta de un conjunto de parámetros que determina tanto las interconexiones entre bloques como los pesos de los filtros de convolución. La estructura de las CNN se puede dividir en dos partes, una de extracción de características y otra de clasificación.

Una vez establecida la arquitectura, los parámetros pueden ser determinados a partir de un proceso de optimización a partir de un subconjunto de la base de datos. En este trabajo un 80% del conjunto de datos se utiliza para el proceso de entrenamiento y el 20% restante para la validación del proceso de clasificación.

Puesto que los filtros convolucionales aplicados a un problema pueden extraer características relevantes en otro distinto, también existe la posibilidad de utilizar una red preentrenada con datos de otro problema.

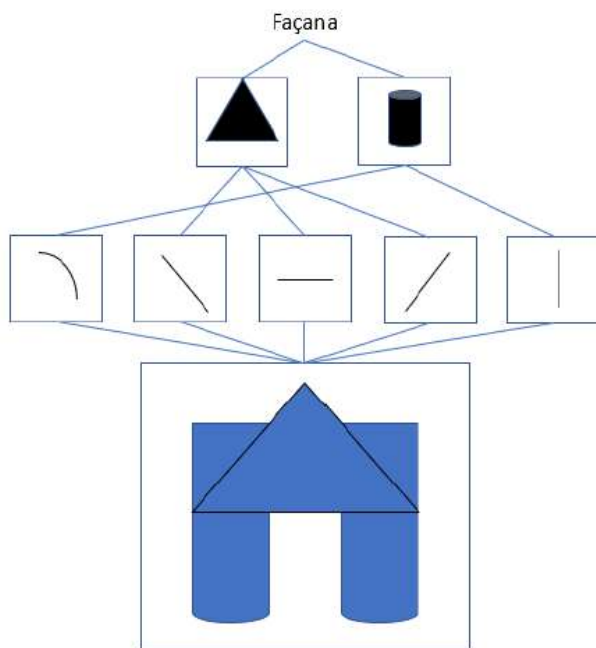


Figura 4. Ejemplo gráfico del funcionamiento de una CNN

En este estudio planteamos la comparación entre tres CNN que utilizan enfoques diferentes:

Enfoque 1: La extracción de características se realiza mediante una CNN con una arquitectura diseñada y preentrenada a partir de datos de otro problema. Las características extraídas son clasificadas con una Máquina de Vectores de Soporte (SVM) que es entrenada a partir de los datos del problema.

Enfoque 2: Utilización de una CNN preentrenada tanto para la extracción de características como para la clasificación.

Enfoque 3: La elaboración de una CNN diseñada y entrenada a partir de la base de datos de nuestro problema.

En los dos primeros enfoques, adicionalmente, se validaron tres arquitecturas CNN preentrenadas que se utilizan de forma habitual en la literatura: AlexNet, VGG19 e InceptionV3.

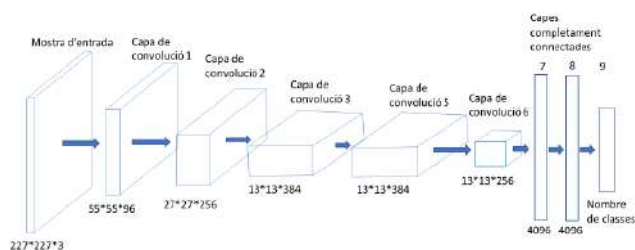


Figura 5. Estructura de la CNN AlexNet

2.3. Entrenamiento y validación estadística del rendimiento

Los diferentes procesos de entrenamiento a los que se someten los diferentes modelos, se encuentran precedidos por determinación de la iteración de la fase de entrenamiento a partir de la cual el modelo realiza un sobreajuste de los datos. Una vez localizado dicho punto, se especifica para cada experimento cuál será la iteración que marcará el fin al entrenamiento.

Los diferentes modelos son validados estadísticamente utilizando una técnica de validación cruzada con K=5 iteraciones, descrita esquemáticamente en la Figura 6. Esta técnica subdivide el conjunto de imágenes en 5 subconjuntos, tomando para cada experimento uno de estos subconjuntos como el de validación, y los restantes para el entrenamiento del modelo. La medida final de validación es la media de la eficacia en la clasificación de los subconjuntos de validación de los cinco experimentos realizados para cada modelo.

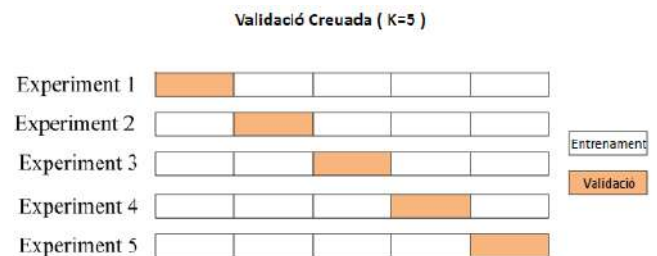


Figura 6. Resumen gráfico de la Validación Cruzada

3. Resultados

En este apartado se procederá a la exposición de los resultados obtenidos al aplicar todas las pautas descritas anteriormente.

La Figura 7 proporciona un resumen general de la eficacia en la clasificación obtenida en cada uno de los tres enfoques tras del proceso de validación. El enfoque que mejor resultado ha proporcionado ha sido el segundo, es decir, la elaboración de una CNN diseñada y entrenada a partir de la base de datos de nuestro problema con una arquitectura AlexNet preentrenada, tanto como Extractor de Características como Clasificador.

	AlexNet	VGG19	InceptionV3
1. CNN + SVM	92.3%	87.7%	92.6%
2. CNN	94.67%	89.1%	78%
3. CNN a medida	88.7%		

Figura 7. Tabla con los resultados de cada enfoque y arquitectura CNN

En la Figura 8 se presenta la matriz de confusión con los respectivos valores de sensibilidad y especificidad obtenidos en el proceso de validación del modelo hallado como mejor para la resolución del problema. Los elevados valores de especificidad y sensibilidad alcanzados son muestra de la gran robustez del modelo, que es capaz de discernir correctamente en un promedio del 95% de los casos.

Una vez comprobado que modelo es que presenta una mejor solución al problema, la última acción es proceder al entrenamiento de este con el conjunto de imágenes completo, para así obtener el modelo definitivo.

		Clase predicha			Sensibilidad (TPR)	Especificidad (TNR)
		BPD	CRL	NT		
Clase real	BPD	95%	4%	1%	95%	98.5%
	CRL	1%	97%	2%	97%	95%
	NT	2%	6%	92%	92%	98.5%

Figura 8. Tabla con los resultados del mejor modelo

4. Conclusión

Hemos aplicado técnicas de aprendizaje profundo a la reconocimiento de planos ecográficos BPD, CLR y NT en ecografías prenatales del primer trimestre. Los resultados de permiten obtener una clasificación con eficacia con niveles de sensibilidad y especificidad superiores al 95%, resultado mayor al de los estudios citados anteriormente.

Una vez reconocido el plano ecográfico, la continuación natural del proyecto sería el desarrollo de técnicas de segmentación que permitan obtener medidas biométricas de forma automática.

Referencias

- [1] Christopher M. Bishop, “Pattern Recognition and Machine Learning”, Springer Science, 2006
- [2] Duda, R.O., Hart, P.E., Stork, D.G. (2001). *Pattern Classification*. Wiley-Interscience, 2nd edition
- [3] François Chollet, “Deep Learning with Python”, MANNING, Shelter Island, 2017
- [4] D. Soekhoe; P. Van der Putten; A. Plaat, “On the Impact of data set Size in Transfer Learning using Deep Neural Networks”, LIACS Leiden University, 2016
- [5] Mathworks, “Deep Learning in MATLAB”, [Online]. Disponible: <https://es.mathworks.com/help/nnet/ug/deep-learning-in-matlab.html>, 2018

- [6] A. Krizhevsky; I. Sutskever; G. E. Hinton, “ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks”, 2012
- [7] H. Wu; Z. Deng; B. Zhang; Q. Liu; J. Chen, “Classifier Model Based on Machine Learning Algorithms: Application to Differential Diagnosis of Suspicious Thyroid Nodules via Sonography”, American Roentgen Ray Society, 2015
- [8] A. Kumar ,P. Sridar, A. Quinton, “Plane identification in fetal ultrasound images using saliency maps and Convolutional Neural Networks”, IEEE, 2016
- [9] H. Chen,Q. Dou, D. Ni, “Automatic Fetal Ultrasound Standard Plane Detection Using Knowledge Transferred Recurrent Neural Networks”, Springer International Publishing Switzerland, 2015
- [10] B. Lei, L. Zhuo, S. Chen, S. Li, “Automatic recognition of fetal Standard Plane in Ultrasound image”, IEEE, 2014
- [11] LeCun, Y., Bengio, Y., & Hinton, G. (2015). Deep learning. *nature*, 521(7553), 436.

Caracterización del Electroencefalograma mediante Entropía Multiescala para la Detección de la Somnolencia

M. Borràs^{1,2}, R. Cambrodi⁴, F. Clariá⁵, G. Sampol⁴, M. Vallverdú^{1,2,3}

¹ Depto. ESII, Escuela de Ingeniería de Barcelona Este (EEBE), Barcelona

² Centro de Investigación de Ingeniería Biomédica (CREB), Barcelona

³ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Barcelona

⁴ Unidad de Medicina del Sueño, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona

⁵ Depto. Informática e Ingeniería Industrial, Universidad de Lérida, Lérida

Resumen

La somnolencia diurna excesiva es uno de los síntomas provenientes de varios trastornos relacionados con el sueño. Diferentes investigaciones afirman que hay más personas afectadas de somnolencia diurna que las diagnosticadas clínicamente, por este motivo se realizan estudios clínicos para detectarla. Los protocolos para la identificación de somnolencia son complicados, largos y molestos para los pacientes. Esto conlleva a la necesidad de realizar estudios basados en el procesado de la señal electrocardiográfica (EEG) para la detección automática de esta enfermedad. El análisis de la señal EEG proporciona información valiosa y de forma no invasiva sobre el estado del paciente. Para caracterizar la somnolencia, en el presente estudio se han desarrollado dos metodologías basadas en el análisis lineal de la señal EEG en el dominio de la frecuencia (densidad de potencia espectral (PSD)) y en el análisis no lineal de la señal en el dominio del tiempo (entropía multiescala (MSE)). Para ello se ha analizado la señal EEG de 19 electrodos superficiales. Diferentes índices han sido definidos con el fin de describir el comportamiento del EEG entre pacientes con somnolencia diurna (CSD) y pacientes sanos (sin somnolencia diurna (SSD)). Se ha encontrado que tanto las técnicas MSE como PSD contribuyen a destacar las características del EEG de los dos grupos de pacientes (CSD y SSD) y por lo tanto, facilitan encontrar índices que caracterizan la enfermedad y así detectarla más fácilmente.

1. Introducción

La somnolencia diurna excesiva (CSD) es un problema clínico y social relevante [1,2] el cual puede tener diferentes causas. Hasta un 30% de la población padece los síntomas CSD [3]. Los registros electroencefalográficos superficiales proporcionan información relevante no invasiva de los cambios de la actividad cerebral asociados a episodios de vigilia durante el sueño. Su análisis puede ser utilizado como criterio de referencia en la identificación de estados cerebrales desde la vigilia a un estado somnoliento o incluso un estado de sueño profundo [4]. Los cambios en la frecuencia y en la amplitud del electroencefalograma (EEG) se han demostrado correlacionados directamente con el comportamiento de parámetros [5] y cambios en estados de alerta y consciencia [6].

Diferentes estudios basados en el procesado de las señales EEG muestran que algoritmos basados en técnicas

lineales y no lineales permiten enfatizar cambios cerebrales durante el sueño. Se ha demostrado que muchas características de la señal EEG no pueden ser descritas solamente por modelos lineales y esto conlleva a argumentar que las medidas no lineales pueden ofrecer diferente información de la actividad cerebral sobre la dinámica de los episodios transitorios entre la vigilia y el sueño [4,7]. Las técnicas no lineales de procesado de señales ofrecen información compleja dinámica subyacente de los procesos neurofisiológicos, permitiendo detectar interacciones no lineales entre zonas cerebrales [8,9]. La actividad no lineal de la señal cerebral ocurre desde el nivel celular ya que el comportamiento dinámico de las neuronas individuales es gobernado por umbrales de activación no lineal.

Las medidas de complejidad más utilizadas al procesado de las señales fisiológicas son la caracterización del atractor [10] la dimensión de correlación [11], exponente de Lyapunov [12], dimensión fractal [13], entropía de Shannon [14]. Todas las medidas de complejidad mencionadas dependen de la estimación de parámetros tales como la dimensión de inmersión así como el tiempo de retardo y el tiempo de predicción para la reconstrucción del espacio de fase.

El objetivo del presente trabajo es analizar las señales EEG de pacientes con CSD mediante técnicas lineales del dominio de la frecuencia (PSD, densidad espectral de potencia), y técnicas no lineales en el dominio del tiempo como es la entropía multiescala (MSE). Esta técnica está basada en la entropía muestral (SampEn) a diferentes niveles multiescala.

2. Metodología

2.1. Base de datos analizada

En este trabajo se ha analizado una base de datos de pacientes con síndrome de apnea-hipoapnea obstructiva del sueño, perteneciente a la Unidad de Medicina del Sueño del Hospital General Vall d'Hebrón (Barcelona).

Han sido incluidos 67 pacientes, 26 pacientes en el grupo sin somnolencia diurna (SSD) y 41 pacientes con

somnolencia diurna (CSD). Esta clasificación se realizó según el test de latencias múltiples del sueño (TLMS), con TLMS<8min para el grupo CSD y TLMS≥8min para el grupo SSD. Un total de 19 mujeres y 48 hombres han sido analizados con una edad media de 49,6 años.

Este estudio fue realizado con la aprobación del Comité Ético del Hospital de la Vall d’Hebron y se adhirió a los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes firmaron una declaración de consentimiento para su inclusión en el estudio.

Esta base de datos consiste de señales EEG registradas durante 10 minutos mediante electrodos superficiales según el sistema internacional 10/20, con una frecuencia de muestreo de 256Hz.

2.2. Preprocesado de las señales

Se aplicó un filtro Notch a 50Hz para eliminar la banda de frecuencia de la red eléctrica y un filtro ICA para minimizar los artefactos presentes en la señal EEG, tales como electromiograma, electrooculograma y electrocardiograma. Además se aplicó un filtro pasabanda Butterworth de orden 5 entre las frecuencias 0,3Hz-70Hz. Finalmente, la señal EEG filtrada fue segmentada en 10 ventanas de 4 segundos equiespaciadas.

2.3. Análisis espectral

Para el análisis espectral se utilizó la aproximación del método de Welch y se aplicó a cada una de las ventanas seleccionadas.

Los ritmos de interés del EEG analizados fueron: Delta (δ) (0.3-3.5 Hz), Theta (θ) (3.5-7.5 Hz), Alfa (α) (7.5-12.5 Hz), Beta (β) (12.5-25 Hz), Gamma (γ) (25-70 Hz) y la banda de frecuencia total (0.3-70 Hz). Además, las bandas α y β fueron divididas según: Alfa1 (α₁) o ritmo alfa lento (7.5-9.5 Hz), Alfa2 (α₂) o ritmo alfa rápido (9.5-12.5 Hz), Beta1 (β₁) o ritmo beta lento (12.5-17.5 Hz) y Beta2 (β₂) o ritmo beta rápido (17.5-25 Hz). Además también se consideró la PSD de cada ritmo normalizada (PSD_n) por la banda total.

2.4. Entropía multiescala

La entropía multiescala [15] cuantifica la información contenida en diferentes escalas temporales de una señal.

Dada una serie temporal unidimensional discreta $x = \{x_1, \dots, x_b, \dots, x_N\}$ y de longitud N muestras, donde x es dividida en ventanas no solapadas de longitud τ . El parámetro τ representa el factor de escala y toma valores enteros mayores de cero.

$$x^\tau(j) = \frac{1}{\tau} \sum_{k=0}^{\tau-1} x(j-k), \quad 1 \leq j \leq N \quad (1)$$

De esta forma se obtiene una nueva serie temporal $x^\tau = \{x_1^\tau, \dots, x_b^\tau, \dots, x_{N/\tau}^\tau\}$ necesaria para el cálculo de la entropía muestral (SampEn, sample entropy).

$$SampEn(\tau) = -\ln \frac{U^{m+1}(\tau)}{U^m(\tau)} \quad (2)$$

siendo

$$U^m(\tau) = \frac{n_i^m}{N - m + 1} \quad (3)$$

donde n_i^m es el número de vectores que satisfacen la distancia calculada en (4).

$$d[u_m(i), u_m(j)] \leq r * sd \quad (4)$$

el umbral r es 0,15 [16], las escalas temporales $\tau = \{1, 2, \dots, 20\}$ y la dimensión de inmersión $m=2$. Finalmente, la entropía se calcula según (5).

$$SampEn(\tau) = \ln \frac{\sum_{i=1}^{N-m} n_i^m}{\sum_{i=1}^{N-m} n_i^{m+1}} \quad (5)$$

2.5. Análisis estadístico

Con el objetivo de estudiar las diferencias estadísticas entre los grupos CSD y SSD a partir de los índices extraídos de los diferentes electrodos del EEG, se ha aplicado el test no paramétrico de Mann-Whitney. Se ha calculado el valor medio de cada índice obtenido en las subventanas EEG seleccionadas. Otro análisis de interés es la caracterización de los índices por zonas cerebrales: frontal (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8); rolándica (C3, C4); temporal (T3, T4, T5, T6); parietal (P3, P4); occipital (O1, O2).

También se ha estudiado el comportamiento de cada índice en cada uno de los grupos CSD y SSD para diferentes edades, $Edad > 50$ años y $Edad \leq 50$ años. En este estudio se ha considerado un nivel de significación estadística p -valor < 0,05 aplicándose posteriormente la corrección de Bonferroni. Finalmente, se ha calculado la correlación de Spearman entre los índices lineales y no lineales considerados.

3. Resultados

Los resultados más relevantes obtenidos del análisis de la frecuencia mediante la PSD se observan en la Tabla 1, donde se consideran las zonas cerebrales. Se puede observar que los índices estadísticamente significativos corresponden a $PSDa1$, $PSD\beta$, $PSD\beta1$ y $PSD\beta2$ en todas las zonas. Solo en las zonas frontal y temporal, los índices $PSDa$ y $PSDa1$ presentan diferencias estadísticas. Todos estos índices espectrales corresponden a la actividad cerebral en vigilia. Finalmente decir que los valores de todos estos índices espectrales son mayores en el grupo SSD, indicando una mayor densidad espectral.

Los valores resultantes del análisis de entropía multiescala se pueden observar en la Figura 1 y en la Tabla 2 cuando se analiza el EEG en cada electrodo. La Tabla 2 presenta los valores de la $SampEn$, siendo mayores en el grupo SSD que en el CSD e indicando un comportamiento de la señal EEG más complejo en el grupo SSD. Las diferencias estadísticas corresponden

principalmente a la zona occipital como se muestra en la Figura 1.

Zonas	Índices	SSD (media ± std)	CSD (media ± std)	p-valor
Frontal	$PSD\alpha$	182,0 ± 181,8	125,5 ± 100,8	0,007
	$PSD\alpha_1$	108,8 ± 139,5	62,9 ± 69,9	≤0,0005
	$PSD\beta$	69,8 ± 40,1	59,0 ± 41,2	0,001
	$PSD\beta_1$	34,2 ± 22,0	28,3 ± 22,5	≤0,0005
	$PSD\beta_2$	35,6 ± 19,9	30,7 ± 20,7	0,001
	$PSDna_1$	0,168 ± 0,107	0,129 ± 0,091	≤0,0005
Rolándica	$PSD\alpha_1$	167,0 ± 227,1	87,9 ± 92,7	0,021
	$PSD\beta$	107,7 ± 59,0	86,8 ± 68,0	0,005
	$PSD\beta_1$	58,0 ± 41,1	45,5 ± 42,2	0,011
	$PSD\beta_2$	49,7 ± 24,6	41,3 ± 28,7	0,007
Temporal	$PSD\alpha$	217,5 ± 262,6	155,6 ± 187,7	0,024
	$PSD\alpha_1$	119,6 ± 195,3	62,7 ± 89,2	≤0,0005
	$PSD\beta$	65,6 ± 39,3	53,0 ± 33,5	0,001
	$PSD\beta_1$	34,8 ± 23,8	27,7 ± 20,0	0,001
	$PSD\beta_2$	30,8 ± 19,8	25,4 ± 15,5	0,007
	$PSDna_1$	0,191 ± 0,140	0,135 ± 0,098	0,002
Parietal	$PSD\alpha_1$	204,5 ± 279,0	104,1 ± 111,5	0,011
	$PSD\beta$	125,7 ± 90,4	88,0 ± 56,6	0,001
	$PSD\beta_1$	72,7 ± 77,1	48,0 ± 37,7	0,007
	$PSD\beta_2$	52,9 ± 27,1	40,0 ± 22,0	0,001
Occipital	$PSD\alpha_1$	260,0 ± 340,8	130,6 ± 160,2	0,019
	$PSD\beta$	108,8 ± 72,8	76,6 ± 43,7	0,002
	$PSD\beta_1$	62,0 ± 57,8	42,2 ± 27,4	0,010
	$PSD\beta_2$	46,9 ± 28,1	34,4 ± 18,6	0,002

Tabla 1. Resultados de la PSD diferenciando SSD y CSD en las zonas cerebrales (p-valor<0,025)

Índices	Elec.	SSD (media ± std)	CSD (media ± std)	p-valor
$SampEn(\tau=6)$	F4	2,077 ± 0,088	2,129 ± 0,124	0,011
$SampEn(\tau=15)$	P4	1,908 ± 0,185	2,032 ± 0,189	0,011
$SampEn(\tau=16)$	O2	1,910 ± 0,174	2,016 ± 0,200	0,011
$SampEn(\tau=17)$	P4	1,905 ± 0,189	2,025 ± 0,217	0,015
$SampEn(\tau=18)$	O1	1,807 ± 0,176	1,951 ± 0,199	0,006
$SampEn(\tau=20)$	Pz	1,812 ± 0,196	1,907 ± 0,221	0,023

Tabla 2. Entropía multiescala ($SampEn$) en los electrodos con p-valor<0,025 al diferenciar entre SSD y CSD

Al analizar la $SampEn(\tau)$ obtenida de la señal EEG en los grupos CSD y SSD diferenciando los dos grupos de edades ($Edad \leq 50$ y $Edad > 50$) se han encontrado diferencias estadísticas como se puede observar en las Figura 2a y Figura 2b. Los valores de $SampEn(\tau)$ tienen un comportamiento monótono creciente desde $\tau=1$ hasta

$\tau=8$, y a partir de $\tau=9$ la entropía decrece. Los valores máximos de las entropías que se encuentran aproximadamente en los factores de escala 7, 8 y 9, no diferencian estadísticamente ni en el grupo CSD ni en el SSD.

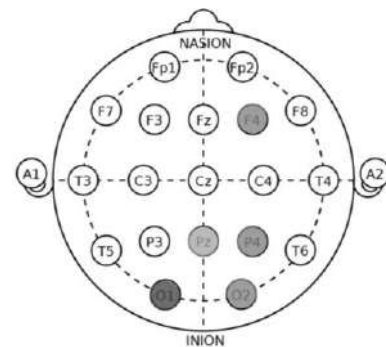
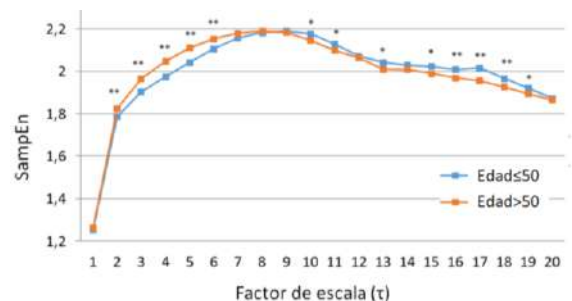


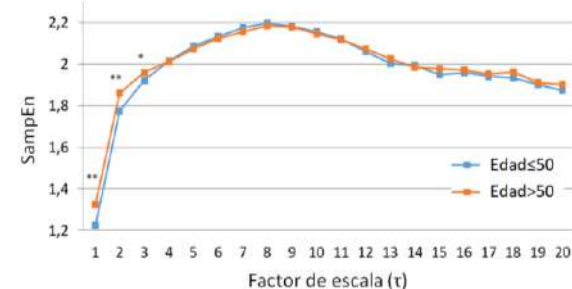
Figura 1. Entropía multiescala: Posición de los electrodos que presentan p-valor<0,025 al diferenciar los grupos SSD y CSD

Los valores de la entropía en el grupo CSD (Figura 2a) han permitido diferenciar estadísticamente desde $\tau=2$ hasta $\tau=6$ con valores mayores de entropía en el grupo $Edad > 50$ y con valores menores en este grupo desde $\tau=10$ hasta $\tau=19$.

Los valores de la entropía en el grupo SSD (Figura 2b) han permitido diferenciar estadísticamente desde $\tau=1$ hasta $\tau=3$ con valores mayores de entropía en el grupo $Edad > 50$ y no presentando diferencias para el resto de factores de escala.



(a)



(b)

Figura 2. Evolución de la entropía multiescala ($SampEn$) en función de factor de escala (τ) diferenciando los grupos por edad ($Edad > 50$ y $Edad \leq 50$): (a) para los sujetos CSD; (b) para los sujetos SSD

Comparando los resultados de la Figura 2a y la Figura 2b, se puede observar que en el grupo CSD las diferencias entre $Edad \leq 50$ y $Edad > 50$ no se presentan para $\tau=1$, y en cambio sí que diferencian en el grupo SSD. Estos resultados permiten deducir que en el grupo de pacientes con somnolencia (CSD) la SampEn presenta más diferencias estadísticas entre los dos grupos de edad que en el grupo de pacientes sin somnolencia (SSD).

La Tabla 3 muestra los resultados del coeficiente de correlación (ρ) obtenidos entre los índices $SampEn(\tau)$ y los índices del análisis espectral PSD, diferenciando los grupos de pacientes SSD y CSD. Se obtuvo una correlación inversa fuerte ($|\rho| > 0,6$) entre la $SampEn(\tau \leq 3)$ y la PSD en la banda α , y una correlación directa fuerte ($|\rho| > 0,6$) entre $SampEn(\tau=4)$ y la PSD en la banda β solamente en el grupo CSD.

	SampEn			
	$\tau=1$	$\tau=2$	$\tau=3$	$\tau=4$
Grupo SSD				
$PSD\alpha$	-	-	-0,643	-
$PSDn\alpha$	-0,627	-0,668	-0,714	-
Grupo CSD				
$PSD\alpha$	-	-0,656	-0,702	-
$PSDn\alpha$	-	-0,638	-0,677	-
$PSDn\beta$	-	-	-	0,673

Tabla 3. Estudio de la correlación entre índices de la PSD e índices de la $SampEn(\tau)$. Nivel de significación estadística p -valor $< 0,0005$

4. Conclusiones

El presente trabajo ha mostrado el alcance de la aplicación de dos tipos de análisis de las señales EEG, un análisis lineal mediante PSD y uno no lineal mediante la entropía multiescala. El análisis de la entropía multiescala ha permitido describir la complejidad de la dinámica no lineal de la señal EEG de dos grupos de pacientes (con y sin somnolencia diurna excesiva). Se han mostrado diferencias en la complejidad de la señal principalmente en la zona occipital y una fuerte correlación de la PSD en la banda α para factores de escala pequeños. De esta manera los índices propuestos han permitido caracterizar la enfermedad y así detectarla más fácilmente.

Agradecimientos

Este trabajo está financiado por el proyecto MINECO (DPI2017-89827-R) del Gobierno Español. CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, una iniciativa de ISCIII.

Referencias

[1] Arand D, Bonnet M, Hurwitz T, Mitler M, Rosa R, Sangal RB. The clinical use of the MSLT and MWT. *Sleep*, Vol 28, n 1, 2005, pp 123–44.

[2] Lombardi C, Parati G, Cortelli P, Provini F, Vetrugno R, Plazzi G, et al. Daytime sleepiness and neural cardiac modulation in sleep related breathing disorders. *J Sleep Res*, Vol 17, n 3, 2008, pp 263–70.

[3] Ohayon MM. From wakefulness to excessive sleepiness: what we know and still need to know. *Sleep Med Rev*, Vol 12, n 2, 2008, pp 129–41.

[4] Swarnkar V, Abeyratne U, Hukins C. Objective measure of sleepiness and sleep latency via bispectrum analysis of EEG. *Med Biol Eng Comput*, Vol 48, n 12, 2010, pp 1203–13.

[5] Jung T, Makeig S. Estimating levels of alertness from EEG. *Actas de la conferencia IEEE-EMBS*, 1994, pp 1103–4.

[6] Andrews-Hanna JR, Reidler JS, Huang C, Buckner RL. Evidence for the default networks role in spontaneous cognition. *J Neurophysiol*, Vol 104, 2010, pp 322–35.

[7] Johnson RR, Popovic PD, Olmstead RE, Stikic M, Levendowski DJ, Berka C. Drowsiness/alertness algorithm development and validation using synchronized EEG and cognitive performance to individualize a generalized model. *Biol Psychol*, Vol 87, n 2, 2011, pp 241–50.

[8] Jeong J. EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol*, Vol 115, 2004, pp 1490–505.

[9] Sabeti M, Katebi S, Boostani R. Entropy and complexity measures for EEG signal classification of schizophrenic and control participants. *Artif Intell Med*, Vol 47, n 3, 2009, pp 263–74.

[10] Pradhan N, Sadasivan PK. The nature of dominant Lyapunov exponent and attractor dimension curves of EEG in sleep. *Comput Biol Med*, Vol 26, n 5, 1996, pp 419–28.

[11] Acharya UR, Faust O, Kannathal N, Chua T, Laxminarayan S. Non-linear analysis of EEG signals at various sleep stages. *Comput Methods Programs Biomed*, Vol 80, n 1, 2005, pp 37–45.

[12] Fell J, Röschke J, Beckmann P. Deterministic chaos and the first positive Lyapunov exponent: a nonlinear analysis of the human electroencephalogram during sleep. *Biol Cybern*, Vol 69, n 2, 1993, pp 139–46.

[13] Chouvarda I, Rosso V, Mendez MO, Bianchi AM, Parrino L, Grassi A, et al. Assessment of the EEG complexity during activations from sleep. *Comput Methods Programs Biomed*, Vol 104, n 3, 2011, pp 16–28.

[14] Shen Y, Olbrich E, Achermann P, Meier PF. Dimensional complexity and spectral properties of the human sleep EEG. *Clin Neurophysiol*, Vol 114, n 2, 2003, pp 199–209.

[15] Costa M, Goldberger AL, Peng CK. Multiscale entropy analysis of biological signals. *Physical review*, 2005.

[16] Valencia JF, Porta A, Vallverdú M, Clarià F, Baranowski R, Orłowska-Baranowska E, Caminal P. Refined Multiscale Entropy: Application to 24-h Holter Recordings of Heart Period Variability in Healthy and Aortic Stenosis Subjects. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol 56, n 9, 2009, pp 2202–2213.

In silico optimization of left atrial appendage occluder implantation using interactive and modelling tools

A. M. Aguado¹, A. L. Olivares¹, C. Yagüe¹, E. Silva², M. Nuñez-García¹, A. Fernández¹, J. Mill¹, I. Genua¹, T. de Potter², X. Freixa³, O. Camara¹

¹ PhySense, Department of Information and Communication Technologies, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain
oscar.camara@upf.edu

² Arrhythmia Unit, Department of Cardiology, Cardiovascular Center, Aalst, Belgium

³ Department of Cardiology, Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Abstract

Around 90% of strokes in patients with Atrial Fibrillation (AF) are caused by a thrombus formed in the left atrial appendage (LAA). Oral anticoagulant (OAC) administration is the first line of treatment for stroke prevention in AF patients. In patients with contraindications to OAC, a left atrial appendage occluder (LAAO) is implanted to prevent blood flow entering in the LAA. A limited range of LAAO devices are available, with different designs and sizes. Together with the heterogeneity of LAA morphology, these factors make LAAO implantation strongly dependent on clinician's experience. A sub-optimal LAAO implantation can induce thrombi generation outside the LAA, eventually leading to stroke if not treated. The aim of this study was to develop clinician friendly tools to optimize LAAO-based therapies. A web-based virtual implantation application was developed, VIDAA, to allow clinicians to select the most appropriate LAAO. Computational Fluid Dynamics (CFD) simulations were then run to estimate thrombus formation risk. Morphological meshes from patient-specific medical images were generated. LAAO meshes were built in Computer Aided Design (CAD). Several device configurations were virtually implanted with the developed platform. Blood flow dynamics were modelled with CFD, imposing as boundary conditions the inlet velocity in the pulmonary veins and a changeable condition at the mitral valve. From the developed application, the device configuration automatically obtained was the one presenting the best rates of LAA closure. Results obtained suggested that device configuration could reduce a 75% thrombus formation, making pre-implant evaluation crucial for obtaining the best clinical outcomes.

1. Introduction

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia diagnosed in clinical practice [1]. Its prevalence increased over the past 50 year, with the increasing life expectation of the society [2]. It is expected to affect to 6-12 million people by 2050 in the USA, and 17.9 million people in Europe by 2060 [2]. One of the categories of AF, non-valvular AF (NVAF), which is encountered in patients that are absent of rheumatic mitral valve disease, prosthetic heart valve, or mitral valve repair, causes 15-20% of cardioembolic strokes [3]. The origin of 90% of these strokes is a thrombus formed in the left atrial appendage (LAA), a cavity of the left atrium (LA) [3]. The first line of treatment to avoid thrombus formation in the LAA is the administration of oral anticoagulants, in which patients are forced to take a pill for life [4]. However, side effects such as: bruising, nosebleed,

gastrointestinal bleeds or haemorrhagic stroke, may appear [4]. In these cases, a medical device is implanted in the LAA, a left atrial appendage occluder (LAAO) [4]. The implantation of these devices must be patient-specific, due to the high morphological variability of the LAA and the specifications of each occlusion device [4].

There are several devices in different stages of development. From the ones available in the market the most known are the Watchman and the Amplatzer AMULET. The Watchman is the only LAAO device approved by the Food and Drug Administration (FDA) and the Conformité Européenne (CE) [5]. Despite the large variety of LAA morphologies, most of LAAO devices can be implanted in a standardized procedure introducing the catheter via the right femoral vein. The correct sizing of the device landing zone requires good visualization of the ostium of the LAA (entrance of the cavity) during or before the intervention [6].

The aim of this study was to develop clinician friendly tools to optimize LAAO-based therapies. A web-based 3D interactive virtual implantation platform was developed (VIDAA: Virtual Implantation and Device selection in left Atrial Appendages) to visualize the LA anatomy of an individual patient with a proposed list and models of the possible LAAO configurations. The platform automatically calculates device size, orientation and position, using patient-specific morphological measures. VIDAA was tested, with data from four patients with NVAF that underwent several virtual LAAO implantations (with different device size, position and orientation), from which the best configuration was determined by the one with the smaller risk of thrombus formation obtained from the performed Computational Fluid Dynamics (CFD) simulations.

2. Materials and Methods

The computational workflow proposed in this study (see Figure 1) provides to the clinician useful patient-specific information about different possible outcomes of LAAO-based therapies before the real intervention. Medical images (computed tomography (CT) and 3D rotational angiography (3DRA)) from OLV Hospital (Aalst, Belgium) and from Hospital Clínic de Barcelona (Barcelona, Spain) were available for the study. From

these images, surface meshes of the LA were reconstructed to obtain morphological indices characterizing patient-specific LAA shapes. The superficial meshes and the morphological indices were combined to obtain the optimal LAAO configuration (size, orientation, site of implantation) in the developed 3D interactive platform, VIDAA.

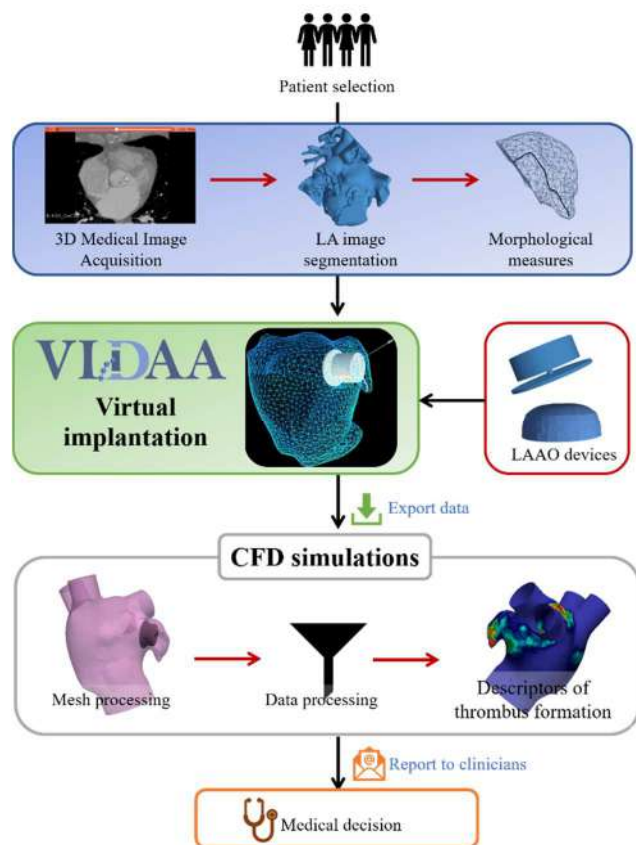


Figure 1 computational workflow proposed to optimize LAAO-based therapies. Once the patient is selected, 3D medical images are acquired from which superficial meshes of the left atrium (LA) and morphological measures of the left atrial appendage (LAA) are acquired. Then the data can be uploaded to VIDAA platform to perform the virtual implantation of the left atrial appendage occlusion (LAAO) devices built in computer-aided design (CAD). Data is exported to compute computational fluid dynamics (CFD) with the aim of obtaining numerical descriptors of thrombus formation. The post-processed data is reported to clinicians in form of coloured maps superimposed to the LA geometry, and based on the obtained results they decide the device to be implanted.

2.1. VIDAA – Virtual Implantation and Device selection in left Atrial Appendages

The Virtual Implantation and Device selection in left Atrial Appendages (VIDAA) platform is an open-source software developed to allow clinicians to select the most appropriate LAAO configuration (type of device, size, landing zone for the implantation) for a given patient-specific LA morphology uploaded by the user.

VIDAA platform was built in HTML5 using THREE.js and React.js JavaScript libraries. It allows the 3D visualization of patient's LA morphology, having the option of iteratively changing the perspective of the object just by using the mouse. Morphological measures of the LAA (maximal and minimal diameters) are automatically calculated and visualized in the height of

the cavity defined by the user with the mouse. The algorithms within VIDAA calculate the optimal device configuration from patient-specific morphological indices, it proposes 2-3 devices of each type. The clinician can then select the device from a list and visualize how it fits the cavity in three dimensions using the mouse, having the capability of performing a clipping to hide the undesired LA regions (to visualize only the LAA).

VIDAA is a secure vulnerable platform meaning that the data uploaded by the user to the platform stays in the client side, does not go to the server and the usage of it, it is not ligated to any software installation.

2.2. Computational Fluid Dynamics simulations

Mesh processing

Patient LA and device superficial meshes were exported from VIDAA platform. Subsequently, to ensure that the flow model applied was normal to the surface of the vessels, different sized cylinders were inserted. These cylinders were manually added to the LA mesh, based on CT and 3DRA image information, representing the pulmonary veins (PVs) and the mitral valve (MV) using *Meshmixer* (<http://www.meshmixer.com/>). A Boolean union operation was performed to join the different cylindrical structures to the LA, followed by a remeshing to obtain a uniform distribution of elements. The superficial meshes were converted in volumetric meshes using *gmsk* (<http://gmsk.info/>). The LAAO device was combined with the surface of the LA mesh to obtain one single volumetric mesh with seven surfaces: one corresponding to the LA, one to the occluder, four to the PVs and one to the MV.

Blood flow patterns were studied with different LAAO device configurations aiming to see the influence of the implanted device in the risk of thrombus formation. For each patient eleven case scenarios were studied, having finally a total number of 44 simulations:

- One model without LAAO device (case 0).
- One model with the LAAO device with optimal size and position from the VIDAA implantation platform (case 1).
- Four models with optimal position (as in case 1) but with different sub-optimal sizes (case 2-5).
- Four models with optimal size (as in case 1) but with different sub-optimal positions and orientations (case 6-9).
- One model with an ideal synthetic LAAO device based on patient-specific geometry (case 10). This case was obtained, creating one cylinder to represent the Watchman, and 3 cylinders and a tube to represent the Amplatzer AMULET. A Boolean intersection operation between the LAA and the cylinders was performed after, obtaining a patient-specific device.

Computational Fluid Dynamics implementation

The CFD analysis was performed using ANSYS Fluent 18.2, in which blood was modelled as an incompressible

Newtonian fluid with density $\rho = 1060 \text{ kg/m}^3$ and dynamic viscosity of $\mu = 0.0035 \text{ Pa}\cdot\text{s}$. Blood was simulated using the incompressible Navier-Stokes and continuity equations.

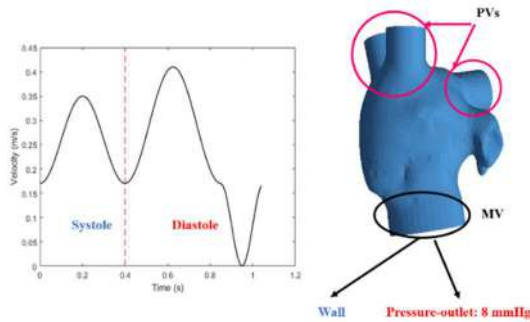


Figure 2 boundary conditions applied to the LA mesh. A sinusoidal function representing a heart cycle of a healthy patient [7] applied to the four pulmonary veins (PVs). The Mitral Valve (MV) was represented as a wall during systole and as a pressure outlet during diastole.

The dynamic of the model was introduced using a sinusoidal function representing a heart cycle of a healthy patient obtained from Fernández-Pérez et al [7] (see Figure 2). The systole had a period of 0.40 s, and it was modelled having the four PVs as velocity-inlets and the MV as a wall, to represent that the valve was closed during this cardiac phase. The diastole lasted for 0.65 s and an outlet pressure of 8 mmHg was applied to the MV to represent that the valve was opened. All atrial walls were modelled as rigid walls with no slip, representing the worst scenario of AF, where the atrium does not contract any more. The whole cardiac cycle was calculated in just one simulation.

Numerical Indices of thrombus formation risk

From the CFD simulations, numerical indices of thrombus formation risk were computed using MATLAB R2017b to detect pro-thrombotic regions in the LA wall, which were characterized by low and oscillatory shear flows. All the indices were based in the Wall Shear Stress exported from ANSYS Fluent 18.2.

- The time-averaged WSS magnitude was defined as [7],

$$TAWSS = \frac{1}{T} \int_0^T |\overline{WSS}|$$

- Oscillatory Shear Index (OSI), represents the predominant direction of the blood during the cardiac cycle [7];

$$OSI = \frac{1}{2} \left(1 - \frac{|\int_0^T \overline{WSS} dt|}{\int_0^T |\overline{WSS}| dt} \right)$$

- Relative Residence Time (RRT) quantified the amount of time that a blood element was in contact with the LA wall [7],

$$RRT = \frac{1}{(1 - 2 \cdot OSI) \cdot TAWSS}$$

- Endothelial Cell Activation Potential (ECAP) was the ratio between the OSI and the TAWSS [7] and was used to characterize the risk of thrombus formation.

$$ECAP = \frac{OSI}{TAWSS}$$

3. Results

In this study, the implantation of the LAA occlusion device was evaluated in the LA mesh of four different patients, with two different LAAO devices. For that purpose, 44 volumetric meshes were constructed for carrying CFD simulations (11 meshes/patient). Moreover, 8 superficial meshes of the Amplatzer AMULET device and 5 of the Watchman devices were built.

3.1. VIDAA - Virtual Implantation and Device selection in left Atrial Appendages

In VIDAA clinicians can interact with the superficial meshes of the LA they upload to the application in two modes: visualizing the data and virtually implanting an occlusion device.

In the data view mode, the user can visualize the uploaded data from different perspectives using the mouse. The wheel of the mouse allows zooming the scene, the right button rotates the scene and the left button translates the camera. Having the possibility of viewing the LA and LAA from different views in a 3D model can help clinicians to have good anatomical knowledge of the structure, before LAA closure is performed.

In the implantation mode, the semi-automatic device positioning based in patient-specific data, reduces the among of time for pre-implant evaluation. Moreover, the user can play with the position, orientation and size of the device visualizing the LAA and the device from different sides easily. VIDAA presents a novel approach for selecting device configuration before the intervention, giving the clinician the knowledge of the possible per-device leaks that could lead to device failure in the clinical environment.

3.2. Computational Fluid Dynamic simulations

Different parameters were analysed to study the blood flow dynamics from the obtained simulation. Wall shear stress, oscillatory shear index, endothelial cell activation potential and residence time parameters were visualized as coloured maps superimposed on the 3D LA and LAA geometry, providing an intuitive way to detect LAAO device designs increasing the thrombus formation risk even after implantation. The obtained results showed a decrement of the thrombus formation risk after the virtual implantation of the device in VIDAA (see Figure 3). The biggest decrement was found in the case with the optimal size and position of the occluder (see Figure 3, 1), and in the synthetic case (see Figure 3, 10) where a patient-specific device was built. The thrombus formation risk increased when device size was decreased a 20% (see Figure 3, 3) and when device position was modified (see Figure 3, 6-9).

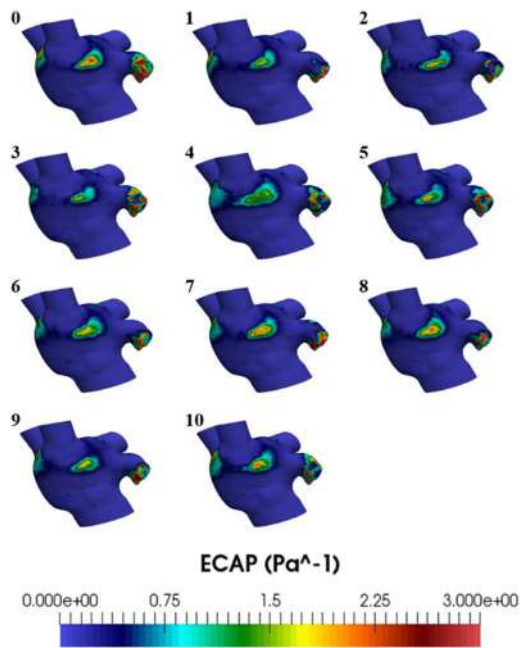


Figure 3 Colormaps representing the Endothelial Cell Activation Potential (ECAP) along the left atrial surface of the cases: without device (0), device configuration exported from VIDAA (1), sub-optimal sized device (2-5), devices with sub-optimal position (6-9) and synthetic device (10).

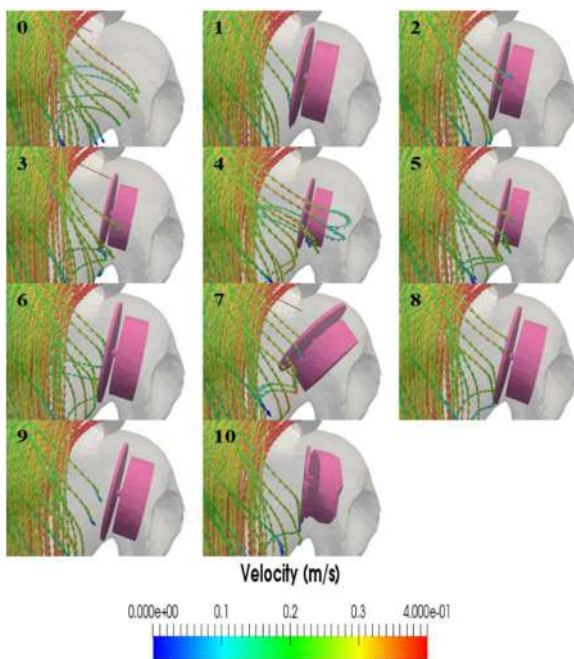


Figure 4 Streamlines and vectors representing the velocity magnitude along the left atrium: without device (0), device configuration exported from VIDAA (1), sub-optimal sized device (2-5), devices with sub-optimal position (6-9) and synthetic device (10).

Whereas, blood flow velocity and patterns were analysed for pre-implant evaluation using streamlines and vectors (see Figure 4). This kind of visualization helped founding complex flow patterns around the device in the configurations where a smaller device was implanted (see Figure 4, 2-5). This complex behaviour can lead to thrombus formation in the new formed cavity between the device and the LAA wall.

4. Conclusions

The developed platform, VIDAA, allows the virtual implantation of LAAO devices in a 3D interactive way using superficial meshes and morphological measures obtained from patient-specific CT and 3DRA medical images. Preliminary results show the influence of device configuration size, position, orientation and shape, on the blood flow and in the risk of thrombus formation, giving to the clinician useful information before LAAO intervention.

Acknowledgments

We would like to thank Dr. Arzamendi from Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona, Spain) and Dr. Brugaletta from Hospital Clinic (Barcelona, Spain) for their support and additional information about LAAO-based therapies. Also, to A. Iribar, J. Pose and A. Serra who helped in the development of the first CFD models. To G. García for providing the code to obtain semi-automatically the numerical indices for risk of thrombus formation, and M. P. García for her help in the development of VIDAA platform.

References

- [1] Singh, I. M., & Holmes, D. R. (2010). Left atrial appendage closure. *Current Cardiology Reports*.
- [2] Morillo, C. A., Banerjee, A., Perel, P., Wood, D., & Jouven, X. (2017). Atrial fibrillation: The current epidemic. *Journal of Geriatric Cardiology*, 14(3), 195–203.
- [3] Di Biase, L., Santangeli, P., Anselmino, M., Mohanty, P., Salvetti, I., Gili, S., ... Gaita, F. (2012). Does the left atrial appendage morphology correlate with the risk of stroke in patients with atrial fibrillation? Results from a multicenter study. *Journal of the American College of Cardiology*, 60(6), 531–538. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.04.032>
- [4] Di Biase, L., Santangeli, P., Anselmino, M., Mohanty, P., Salvetti, I., Gili, S., ... Gaita, F. (2012). Does the left atrial appendage morphology correlate with the risk of stroke in patients with atrial fibrillation? Results from a multicenter study. *Journal of the American College of Cardiology*, 60(6), 531–538.
- [5] Suradi, H. S., & Hijazi, Z. M. (2017). Left atrial appendage closure: Outcomes and challenges. *Netherlands Heart Journal*.
- [6] Wang, D. D., Eng, M., Kupsky, D., Myers, E., Forbes, M., Rahman, M., ... O'Neill, W. (2016). Application of 3-Dimensional Computed Tomographic Image Guidance to WATCHMAN Implantation and Impact on Early Operator Learning Curve: Single-Center Experience. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 9(22), 2329–2340.
- [7] Fernandez-Perez, G. C., Duarte, R., Corral de la Calle, M., Calatayud, J., & Sanchez Gonzalez, J. (2012). [Analysis of left ventricular diastolic function using magnetic resonance imaging]. *Radiologia*, 54(4), 295–305.
- [8] Di Achille, P., Tellides, G., Figueroa, C. A., & Humphrey, J. D. (2014). A haemodynamic predictor of intraluminal thrombus formation in abdominal aortic aneurysms. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 470(2172), 20140163–20140163.

Information Processing Organization of a Biological Neural Network

S. Galella Toledo¹, O. Vilarroya Oliver², J. Garcia-Ojalvo³

¹ Department of Experimental and Health Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain, santiago.galella01@estudiant.upf.edu

² Department of Psychiatry and Legal Medicine, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain, oscar.vilarroya@uab.cat

³ Department of Experimental and Health Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain, jordi.g.ojalvo@upf.edu

Abstract

The aim of this study is to characterize how information is propagated within a biological neural network using the connectome of *Caenorhabditis elegans* as a model. In particular, reservoir computing is proposed as the architecture of the neural network of the organism. This architecture relies on a recurrent core of neurons that receives and encodes complex inputs in a high dimensional phase space. Encoding takes place by combining the incoming input signal with the existing state of the network, which depends on past inputs. In this study we used neuronal time series from *C. elegans* registered in conditions of oscillating temperature to assess the possibility of reservoir computing architecture in the nervous system of the nematode. This paradigm could help in the understanding of how a basic nervous system's processing works, for further inferences in higher complex systems.

1. Introduction

Thanks to evolution and life itself, millions of different species are currently living on earth. These organisms have been the result of billions of multiple selection pressures. We humans are also the result of a highly complex evolutionary process, developing the ability of being aware not only of ourselves but also the world that surrounds us.

In this work, we intended to make a step closer to understand the nature of the computation of neurons studying the processing information of a neural system of a simple organism: *C. elegans*.

1.1. *C. elegans*

C. elegans is a soil nematode (Figure 1) [1] which reaches a maximum length of 1.3 mm and a diameter of 80 μm when the growth conditions are optimal.

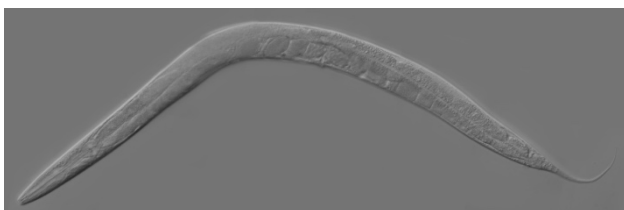


Figure 1. *C. elegans* under optic microscopy.

From the 959 somatic cells forming *C. elegans*, their nervous system is composed of a total number of 302 neurons. The connectome of *C. elegans* is the only organism whose connectome has been mapped up to the extent of a single neuron.

1.2. Reservoir Computing

The nervous system of an organism has to be capable of integrating different external stimuli, reacting to them in the best manner possible to ensure survival. In this work we propose reservoir computing as the architecture of the organization of *C. elegans* nervous system (Figure 2).

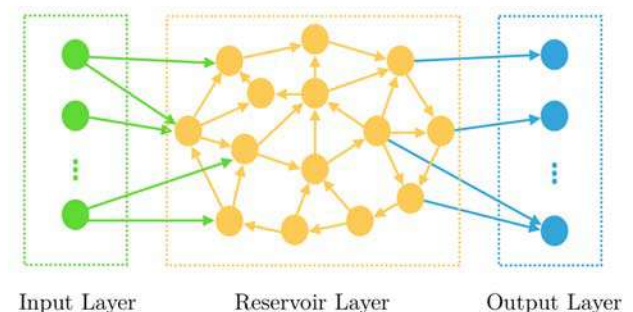


Figure 2. Reservoir Computing architecture.

Information from the environment is sensed by the input layer. The core is responsible of the computation of the incoming input. The information is sent to the output layer in the last step of processing.

2. Methods

2.1. Dataset Acquisition

The full connectome of *C. elegans* is available in WormWiring [2]. In this work, the connectome under study was the hermaphrodite connectome. The database provides information about edge weights of the connections, corresponding to the strength of synaptic connections. However, the sign of the connections (inhibitory or excitatory, if negative or positive, respectively) was not provided.

Professor Vivek Venkatachalam from Northeastern University provided the time series of 84 different neurons of *C. elegans* [3]. From the total group of 84 neurons, 9 of them were successfully identified and labeled according to prior literature neuron nomenclature (Table 1).

Neuron	Function
AFDL	Thermosensor
AFDR	Thermosensor
AIBL	Information Integration
AVAL	Backward Locomotion
AVBL	Forward Locomotion
AVDL	Backward Locomotion
AVDR	Backward Locomotion
RIML	Ring Motor Neuron
RMEL	Ring Motor Neuron

Table 1. Function of labeled neurons.

Neural activity was recorded under oscillating temperature conditions from 15 to 17.5 °C (input), using fluorescent calcium indicator proteins. Moreover, it was recorded changes in the velocity of the head in the x axis of the roundworm (output). The total duration of the recording was 226 seconds (Figure 3).

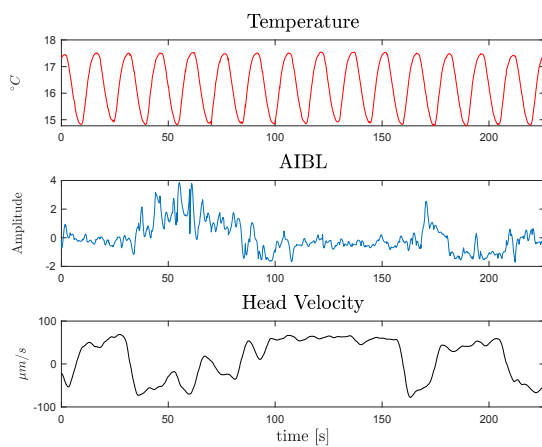


Figure 3. Temperature oscillations (top), neuronal activity (middle) and head velocity (bottom).

From activity of 84 neurons, one was rejected due to errors using the mutual information estimators. The main results were obtained with the 9 labeled neurons. In the original document, further analysis using 83 neurons can be consulted. Neuronal activity was standardized accordingly to have mean 0 and standard deviation 1.

2.2. Data Analysis

The time series were analyzed by different methods to estimate the measure of similarity between signals. These measures consist in linear correlation and non-linear correlation estimators.

Pearson correlation coefficient and cross-correlation function are used to estimate linear correlation between two signals. Pearson correlation coefficient allows to measure direct correlation without shifting of the signals, whereas cross-correlation computes the linear correlation for different time shifts (lags). For lag equal to 0, both estimators provide linear correlation without time shifts.

Two different non-linear correlation estimators were used: mutual information [4] and rank-based statistics [5]. Although both estimators compute non-linearities between signals, rank-based statistics allows to find directional couplings (0 non-coupled and 1 total coupling).

Results using Pearson correlation coefficient will be shown in this document, for the sake of simplicity in the results presentation. Furthermore, it showed more interpretable results, in comparison with the other estimators. Deep analysis of the four estimators can be consulted in the original document.

2.3. Genetic Algorithm

We designed a genetic algorithm to choose whether the synapses were inhibitory or excitatory in order to fit the real neural data with the reservoir computing architecture to produce new artificial signals. Dale's principle was respected: neurons can be either excitatory or inhibitory, but not both. The sign of the connections was kept fixed within all the connections of the same neuron.

3. Results

3.1. Neuronal clustering

First, we estimated the correlation of neurons with each other (Figure 4).

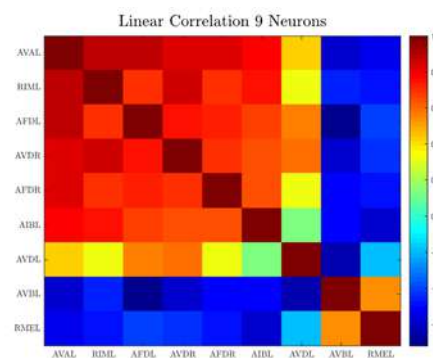


Figure 4. Linear Correlation 9 Neurons.

We found that six of them were highly correlated between themselves. Two presented anticorrelation with all the rest of the neurons and the last one showed partial correlation. In overall, the correlation among themselves was noticeable, showing that their activity is somehow related in the processing of the information. Three of these neurons, AVAL, AVDR and AVBL have been shown to be highly connected within the network, being important in the early stages of the development of the roundworm [6].

3.2. Neural activity and function

Neurons have been associated with different functions in *C. elegans*. These functions include chemotaxis, water detection in the environment, sensing of volatile odors etc. Most of the times, these functions are detected by removing these neurons *in vivo* and studying the behavior of the roundworm afterwards [7].

Estimating the similarities of the neuronal activity and the output can be trustworthy to assess neuronal function. Neurons AFDL and AIBL presented higher similarities with temperature data and the head velocity, respectively. These results correspond to the previous function of these neurons presented in the literature (Figure 5).

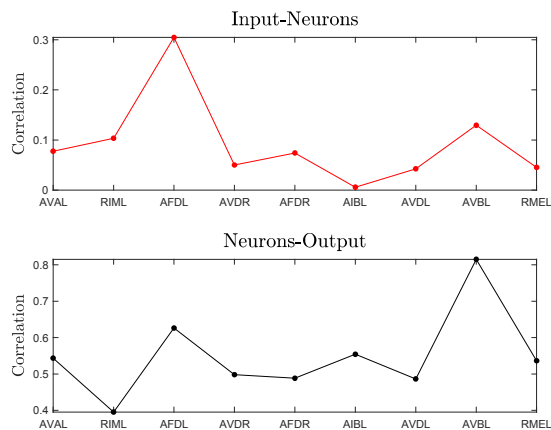


Figure 5. Similarities between neuronal activity and the temperature (top) and the head velocity (bottom).

3.3. Influence of distance in information propagation

Network distance (i.e. the shortest path between two neurons) might be important in the processing of information within the neural network. For this reason, we studied how similarities between a neuron and the input and between the output changed with the distance to the closest sensory neuron, motor neuron and innervation [8-9] (Figure 6).

We observed that neurons that were closest to sensory neurons had a higher correlation with the input, the temperature (top-left). Besides the closest to motor neurons, showed high correlation with the output, the head movement (top-right). The closest to an innervation neuron showed more correlation when the distance of the neuron was higher (bottom-left) and more correlation with the output as the distance was shorter (bottom-right).

The other estimators showed similar behavior. There is a gradient of information within the network, showing that there is a hierarchy of the neurons that compose the neural system of the roundworm.

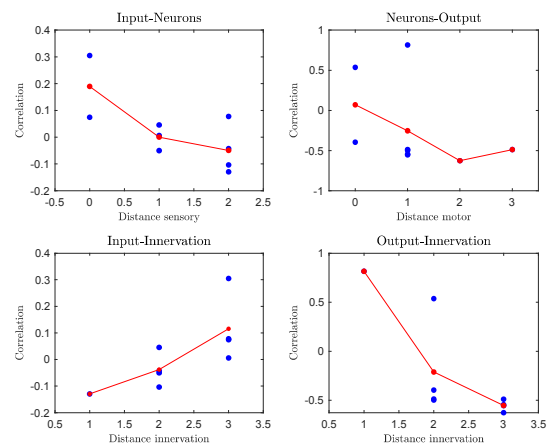


Figure 6. Correlation as a function of four different distances. The distance to the closest sensory neuron (top-left), to the closest motor neuron (top-right) and the distance to the closest innervation (bottom-left and bottom-right).

3.4. Simulation of network dynamics

The aim of the simulation is to evaluate whether it is possible to reproduce the neuronal activity of the neurons following a reservoir computing architecture, when we introduce the same input in the system. Neurons AFDL and AFDR are thermosensors and the simulation begins with their activity as initial trigger and it was kept fixed during the simulation. We computed the activity of the rest of the labeled neurons by using a discrete time updating rule that allowed a concurrent update of the state of every neuron.

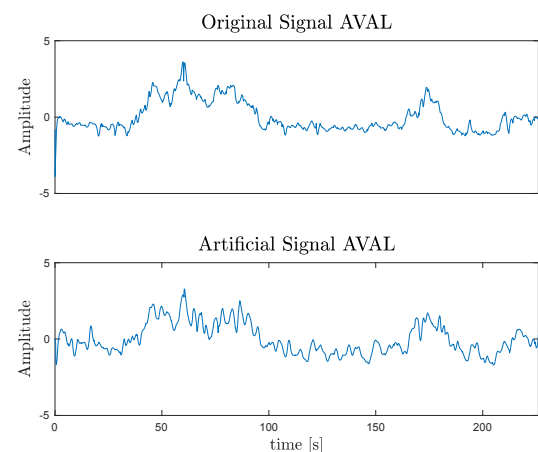


Figure 7. Original neuronal signal (top) and, artificial signal with neuronal data input (bottom).

Synapses type of 14 neurons was fixed according to prior literature [10-11]. The rest of the neurons were fitted using a genetic algorithm. Different time series were produced using different inputs for the thermosensor neurons. The best results presented a correlation of 0.8780 between the original AVAL signal and the artificial one (Figure 7). The best mean corresponded to 0.6910. The percentage of inhibitions percentage within the network was 20-50%.

4. Discussion

In this work we have used time series from 83 neurons of *C. elegans* plus the architecture of its neural network to study how information propagates within a real biological network. From the ensemble of 83 neurons, we could retrieve information from 9, as they were labeled and properly identified by V. Venkatachalam and his team [3].

The group of 9 neurons presented high correlation between each other, showing a closeness in computation within the neural network. From these 9 neurons, 3 are highly connected with other neurons of the connectome, being important in the correct development and functioning of the roundworm. Regarding the function, there were similarities between neural activity and the variations of temperature and head velocity, showing that neurons can be strongly associated with function. This shows an advantage of studying neuronal function without having to remove neurons in vivo to assess their role within the network.

There is a gradient of information inside the network, when an external input is introduced to the system. This gradient suggests that neurons can be stratified according to an architecture similar to reservoir computing. Propagation and processing of information can be observable when comparing the activity of neurons that are afar from each other.

The simulations were useful to find that temperature can drive the neural activity from the recordings when fixing a reservoir-like architecture. Optimal results were found near a mean correlation of 0.70.

5. Conclusion

The simulation of the network of *C. elegans* suggest that a reservoir-like architecture could be feasible in living organisms. By means of data analysis of neural recordings, we could find input neurons and output neurons. Further work should include the activity of more labeled neurons to avoid biases. As most of the synapses are still to be characterized, the development of a reliable system that uses biological data to predict whether a synapse is excitatory or inhibitory could be interesting to improve the study and analysis of other connectomes.

Acknowledgements

I would like to acknowledge professor Vivek Venkatachalam for providing the neuronal time series and the data, without which this work would have been impossible to do. Thanks to Ralph Gregor Andrzejak for the assistance with the time series analysis, to my thesis reviewers, Belen Sancristobal and Pablo Ruiz, as well as to my colleague Miguel Casal, for the data shared and the discussions that lead to some of the ideas of this work.

Lastly, I would like to thank the organizing committee of CASEIB for accepting my work to be presented.

References

- [1] Altun, Z. Adult *Caenorhabditis elegans* (2006). https://en.wikipedia.org/wiki/Caenorhabditis_elegans#/media/File:Adult_Caenorhabditis_elegans.jpg (Consulted in May 2018).
- [2] The *C. elegans* wiring project. A database for *C. elegans* neural connectivity data (2012). <http://wormwiring.org> (Consulted in January 2018).
- [3] Venkatachalam, V. et al. Pan-neuronal imaging in roaming *Caenorhabditis elegans*. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), E1082-E1088, 2016, pp 113 (8) (ISSN: 0027-8424).
- [4] Szabó, Z. Information theoretical estimators toolbox. Journal of Machine Learning Research, 15, 2014, pp 283-287 (ISSN: 1533-7928).
- [5] Chicharro, D. & Andrzejak, R. G. Reliable detection of directional couplings using rank statistics. Physical Review E, 80, 2009, Iss 2. (ISSN: 2470-0053)
- [6] Towlson EK et al. The rich club of *C. elegans* neuronal connectome. Journal of neuroscience, 33, 2013, 6380-7. (ISSN: 1529-2401).
- [7] Mori, I. & Ohshima, Y. Neural regulation of thermotaxis in *Caenorhabditis elegans*. Nature, 376, 1995, 344-348. (ISSN: 1476-4687).
- [8] Kramer, J.M. & Moerman, D.G. Wormbook. The *C. elegans* Research Community. The sensory cilia of *Caenorhabditis elegans* (2007). <http://www.wormbook.org> (Consulted in January 2018).
- [9] Altun, Z.F., Herndon, L.A., Wolkow, C.A., Crocker, C., Lints, R. and Hall, D.H. WormAtlas, (2002) <http://wormatlas.org>.
- [10] Sulston JE et al. Dopaminergic neurons in the nematode *Caenorhabditis elegans*. The Journal of comparative Neurology, 163, 1975, 215-26. (ISSN: 1096-9861).
- [11] Horvitz H. et al. Serotonin and octopamine in the nematode *C. elegans*. Science, 216, 1982, 1012-1024. (ISSN: 1095-9203)

DESARROLLO DE UNA HERRAMIENTA PARA LA DETECCIÓN AUTOMÁTICA DEL PLANO VALVULAR MITRAL MEDIANTE ALGORITMOS DE DEEP LEARNING

M. Giménez Ucendo¹, D. Bermejo-Peláez¹, J.E Ortuño Fisac¹, E.R McVeigh², M.J Ledesma-Carbayo¹

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid & CIBER Madrid, España.

² Department of Bioengineering, UC San Diego, La Jolla, CA, USA

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en España. Este hecho incentiva el desarrollo de herramientas automáticas de ayuda al diagnóstico de las mismas basadas en imágenes médicas. Por otro lado, una de las estructuras cardíacas con mayor importancia en el corazón es la válvula mitral. La localización y detección automática del plano que la contiene puede ayudar a la obtención de biomarcadores relacionados con la función del ventrículo izquierdo, así como apoyar en el diagnóstico y la planificación terapéutica de las diversas patologías en las que puede estar involucrada.

En este trabajo se propone un método basado en Redes Neuronales Convolucionales (CNN) para la detección y localización automática del plano valvular mitral de forma dinámica a lo largo de ciclo cardíaco a partir de secuencias de imágenes de CT cardíaco. El método propuesto se ha entrenado y validado con 96 frames correspondientes a 12 pacientes diferentes.

1. Motivación

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte de nuestro país, representando según el Instituto Nacional de Estadística un 29,2% de los fallecimientos en el 2016. Tanto los hábitos saludables como el diagnóstico precoz de dichas enfermedades son de vital importancia para disminuir el grado de afectación. Una de las estructuras cardíacas de alta importancia para gran parte de estas enfermedades es la válvula mitral [1]. La válvula mitral es la encargada de regular el flujo sanguíneo desde la aurícula izquierda al ventrículo izquierdo, y el estudio del plano que define nos proporciona gran cantidad de información.

En primer lugar, la localización del plano mitral nos permite analizar el estado de la válvula y diagnosticar un conjunto de enfermedades cardiovasculares conocido como valvulopatías asociadas a dicha válvula. Las valvulopatías son las enfermedades propias de las válvulas del corazón. En la actualidad, la prueba principal que se utiliza para diagnosticar este tipo de patologías es el ecocardiograma, la cual es la más rápida y económica. Sin embargo, para realizar un diagnóstico profundo, y, sobre todo, para realizar una correcta y minuciosa localización de la válvula mitral de cara a la planificación de una posible intervención, es necesario el uso de otras modalidades de imagen con mayor resolución espacial como la Tomografía computarizada (CT). El tratamiento de las valvulopatías no sólo se ha desarrollado de manera notable en las últimas décadas por el continuo progreso de la tecnología protésica valvular, sino que también se ha reorientado hacia el desarrollo de intervenciones quirúrgicas reparadoras y la introducción de técnicas de intervención percutánea. En definitiva, es necesario llevar a cabo un estudio previo muy detallado de la localización y estado de la válvula mitral,

que a su vez queda definido por la observación y medidas en el entorno del plano valvular mitral que determinan el posterior tratamiento.

En segundo lugar, el plano valvular mitral no solo es útil para la localización de las válvulas para su diagnóstico y planificación terapéutica, sino que la detección del plano valvular mitral sirve para llevar a cabo multitud de medidas cuantitativas de la propia válvula, como por ejemplo medidas del diámetro valvular, área valvular, así como la obtención de otros parámetros funcionales del ventrículo izquierdo como la fracción del volumen de eyección durante el ciclo cardíaco de manera más precisa. Estas medidas tienen gran valor diagnóstico y permiten definir la estrategia de tratamiento o intervención más adecuada.

Por otro lado, a lo largo del ciclo cardíaco el corazón está en continuo movimiento. Para una correcta visualización (y posterior cuantificación) de ciertas estructuras del corazón de forma dinámica a lo largo del ciclo cardíaco, se requiere de una corrección de este movimiento. Dicha corrección de movimiento se podría llevar a cabo en un volumen reformateado según el eje largo del corazón, el cual dependería de una previa localización del plano valvular mitral

Hasta ahora, la localización del plano valvular mitral se ha realizado de forma manual, conllevando de esta forma un alto coste tanto en términos económicos como de tiempo. Es por ello que el desarrollo de una herramienta capaz de detectar el plano valvular mitral de manera automática durante el ciclo cardíaco podría favorecer la realización de medidas más precisas y mitigar las limitaciones descritas anteriormente.

2. Metodología

2.1 Planteamiento del problema

El objetivo fundamental del trabajo realizado es la detección y localización automática de la válvula mitral durante el ciclo cardíaco. Este problema se va a abordar llevando a cabo la localización de tres puntos anatómicos de la válvula cardíaca correspondientes a las inserciones de los velos valvulares. Geométricamente, estos tres puntos, puesto que no estarán alineados, definirán el plano que contiene la válvula mitral.

En este trabajo se propone llevar a cabo la localización de dichos puntos en los planos ortogonales que definen los ejes largos del corazón (sagital y coronal) dado un volumen cardíaco reformateado según la dirección axial del corazón. Se supone por tanto necesario un reformateo previo del volumen cardíaco según el eje del ventrículo izquierdo. Este paso previo se puede realizar de forma automática en estaciones de trabajo de CT cardíaco.

Por tanto, para llevar a cabo la localización y detección de estos tres puntos que definen el plano valvular mitral, se propone la siguiente metodología compuesta de dos fases diferenciadas. La primera fase consiste en la detección de aquellas vistas bidimensionales (ejes largos del corazón, sagital y coronal), dado el volumen cardíaco en 3D reformateado, que contengan los puntos de interés. Esta tarea se llevará a cabo mediante una Red Neuronal Convolutiva (CNN) de clasificación que seleccionará el plano donde se realizará la posterior localización de los puntos de interés. La segunda etapa del método propuesto consiste en la detección de los puntos de interés, dado los planos predichos y localizados de la fase anterior. Para ello se propone el uso de una segunda CNN de detección, que detectará y localizará los puntos en los planos seleccionados por la primera CNN.

Esta operación se repetirá para cada una de las vistas (sagital y coronal). Dos de los puntos de interés se localizarán en el eje largo sagital del corazón, mientras que el tercero se detectará en eje largo coronal. En definitiva, se utilizarán dos CNNs de clasificación (una para cada vista) y tres CNNs de detección (una para cada punto). De esta forma, podremos detectar de forma automática las coordenadas tridimensionales de los 3 puntos que definen el plano valvular mitral. Esta metodología en dos fases queda definida en la Figura 1.

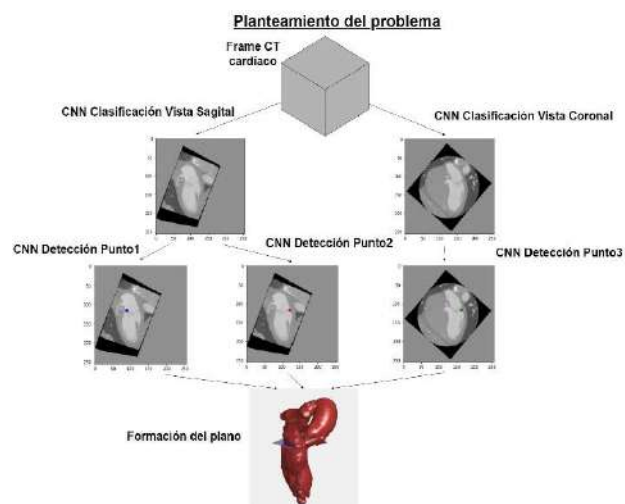


Figura 1. Representación esquemática del planteamiento del problema.

2.2 Red Neuronal Convolutiva de clasificación

Como se ha explicado anteriormente, en esta primera etapa, una primera CNN de clasificación seleccionará aquellas vistas bidimensionales en los ejes largos donde posteriormente se podrá llevar a cabo la detección de los puntos de interés. Esta red de clasificación recibirá como entrada cada una de las vistas bidimensionales que contenidas en el volumen cardíaco para poder ser clasificadas de forma binaria como vistas “aptas” o “no aptas” para la detección de los puntos. Estas imágenes bidimensionales tienen un tamaño de 256x256 píxeles. A esta capa de entrada le siguen dos capas convolucionales, con un banco de 32 filtros cada una, todos ellos de tamaño 3x3 para captar información local de la imagen. Estas primeras capas serán las encargadas de aprender las

características de bajo nivel de los datos de entrada. A estas capas convolucionales, le sigue una capa de submuestreo de tipo *max-pooling* con un campo receptivo de 2x2, seguida de otras dos capas convolucionales (64 filtros de 3x3) y otra de submuestreo. Una vez llegados a este punto, la red habrá extraído y aprendido las características directamente de los datos de entrada para su correcta clasificación. Cabe destacar que después de cada capa convolutiva se aplica a la salida la función no lineal ReLU.

La arquitectura finaliza con una sucesión de tres capas densamente conectadas (Perceptrón Multicapa) cuya función es unificar toda la información de las características extraídas de las capas convolucionales. La última capa, tendrá dos neuronas (clasificación binaria anteriormente comentada) con una activación no lineal tipo *softmax* que proporciona las probabilidades de que la entrada pertenezca a cada una de las clases.

La arquitectura de la CNN de clasificación se puede observar en la Figura 2a.

2.3 Red Neuronal Convolutiva de detección

Una vez seleccionada la vista óptima para la detección de los puntos de interés, se predecirán las coordenadas de los mismos mediante una Red Neuronal Convolutiva de detección.

En esta red de detección o regresión de las coordenadas de los puntos de interés, las capas convolucionales y de agrupamiento tienen el mismo tamaño que en la red de clasificación y en su salida se aplica también la función no lineal ReLU. Sin embargo, esta red de detección es más compleja y profunda, formada por 12 capas convolucionales y 5 de agrupamiento, ya que las características discriminativas para la detección de los puntos son más complejas. Finalmente termina con tres capas densamente conectadas cuya capa de salida está formada por dos neuronas correspondientes a las dos coordenadas predichas (ver Figura 2b). En este caso no se hará uso de la función *softmax* ya que esta CNN es una red de regresión que tiene como salida la estimación de las coordenadas x, y del punto que se desea localizar.

Cabe destacar que tanto en la red de clasificación como en la de detección, el entrenamiento se basa en un problema de optimización para la minimización de la función de coste, en clasificación se optimiza la entropía cruzada y en

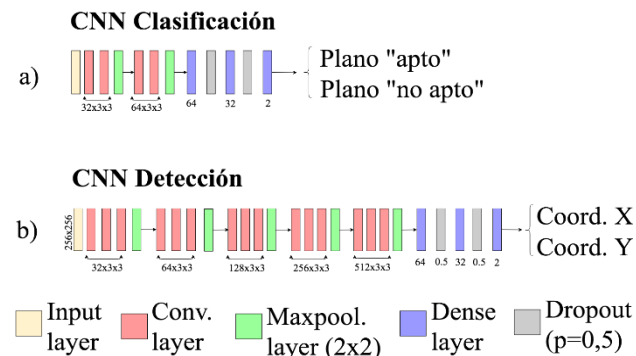


Figura 2. Configuraciones de las arquitecturas de las CNN de clasificación (a) y detección (b)

detección el error cuadrático medio. En los dos casos se utiliza el método de descenso de gradiente estocástico (SGD) con una actualización de momentos de Nesterov [2].

2.4 Prevención del sobreajuste

Las Redes Neuronales Convolucionales, que involucran miles de parámetros, tienden fácilmente al sobreajuste de los mismos a la base de datos de entrenamiento, impidiendo una correcta generalización. Este problema se ha abordado utilizando cuatro técnicas diferentes.

En primer lugar, se ha utilizado la técnica de la interrupción anticipada, la cual detiene el entrenamiento de la red antes de que empiece el sobreajuste [3].

En segundo lugar, se ha aplicado una regularización de la función de coste. Mediante la regularización L2 se penaliza la magnitud al cuadrado de todos los pesos de la red (w) directamente en la función de coste añadiendo un término regularizador de valor $\frac{1}{2}\lambda w^2$, donde λ es el parámetro regularizador [4]. Este método penaliza los cambios abruptos dando preferencia a los cambios suaves en la dirección del gradiente de error.

También se ha aplicado la técnica de *dropout*, consistente en desconectar aleatoriamente ciertas neuronas a lo largo de la arquitectura con una cierta probabilidad durante el entrenamiento [5]. Esta práctica es equivalente a entrenar un conjunto de redes que contenga todas las posibles configuraciones de dicha red. De esta forma, se disminuirá el sobreajuste.

Por último, se ha aplicado la técnica de aumento de datos. Esta técnica se basa en aumentar el conjunto de datos para que haya mayor variabilidad en el conjunto de datos de entrenamiento provocando que sea más difícil el sobreajuste. En este caso, se han multiplicado por 5 el número de imágenes de entrenamiento mediante combinaciones de transformaciones de rotación ($\pm 20^\circ$), escala ($\pm 10\%$) y traslación en ambos ejes de la imagen ($\pm 20\%$ de la longitud de los mismos).

3. Experimentos y Resultados

El conjunto de datos utilizado en este trabajo consiste en 96 *frames* (sin el aumento de datos aplicado) de CT cardiacos correspondientes a la fase de sístole provenientes de 12 pacientes diferentes (8 *frames* por paciente). Para cada uno de los pacientes y para cada *frame* de los mismos, se llevó a cabo una localización manual a través de la herramienta OsiriX de los tres puntos de interés conformando así la base de datos de entrenamiento y validación de la herramienta propuesta. Cabe destacar que se han eliminado del estudio aquellos *frames* correspondientes a la fase de diástole debido a la gran dificultad de detectar visualmente los puntos de interés causada por la apertura de la válvula durante esta fase del ciclo cardiaco.

3.1 Metodología de evaluación y justificación de hiperparámetros

Para realizar una evaluación de los experimentos y poder justificar la elección de los hiperparámetros se han dividido

los datos de los 12 pacientes en 3 grupos. Por un lado, tres pacientes forman el conjunto de *test* para la evaluación de la metodología, mientras que 9 pacientes se reservaron para el entrenamiento y la elección de hiperparámetros de las mismas (conjunto de entrenamiento y validación). La separación de pacientes para el entrenamiento y validación se realizó utilizando el método de validación cruzada de 9 iteraciones, asegurando que 8 pacientes se utilizan para training y 1 para validación en cada iteración.

Mediante esta metodología se pudo optimizar las arquitecturas de ambas redes de clasificación y detección, pudiendo llegar a las presentadas en la secciones 2.2 y 2.3, comprobando también un mejor comportamiento cuando se hace uso de redes de detección individualizadas para cada punto en lugar de una misma red de detección para los 2 puntos de la vista sagital.

3.2 Evaluación en el conjunto de *test*

El conjunto independiente de datos de *test* se compone de 24 *frames* provenientes de 3 pacientes independientes a los del entrenamiento. Tras predecir los puntos de interés mediante la metodología en dos fases anteriormente expuesta, se evaluará la precisión en la detección de los mismos para cada paciente y punto bajo estudio, reportando la distancia media (mm) entre los puntos predichos y reales. Adicionalmente, se reportará también la distancia según el eje largo del corazón (Error(z)) entre los planos predichos y los reales, ya que la distancia entre los planos en esta componente es la que afectará en mayor medida al cómputo de parámetros derivados funcionales.

Paciente	Error [mm]	Error (z) [mm]	Punto	Error [mm]
#1	7,26	1,52	#1 (sagital)	6,41
#2	16,39	11,43	#2 (sagital)	7,22
#3	5,46	1,48	#3 (coronal)	5,43
Media	9,70	4,81	Media	9,70
(std)	(5,17)	(4,98)	(std)	(5,17)

Tabla 1. Resultados de la evaluación del conjunto de *test*.
Izquierda: precisión por paciente bajo estudio. Derecha: precisión por punto bajo estudio.

Como se desprende en los resultados presentados en la Tabla 1, se puede observar cierta variabilidad en el rendimiento del esquema de procesamiento presentado en función de los distintos pacientes. En los pacientes primero y tercero, se obtiene un error en la componente transversal inferior a 2mm. Sin embargo, se comete un error de 11,43mm en el segundo caso. Esto es debido a que este paciente en concreto presentaba una anatomía compleja y diferente en relación a los datos de entrenamiento, siendo por tanto más compleja la detección de los puntos. Por otro lado, si se analiza la detección de cada punto por separado, se observa que el mayor error se obtiene durante la localización de los puntos correspondientes a la vista sagital (puntos 1 y 2), aspecto que se tendrá en cuenta de cara a futuras mejoras, ya que un error en localización de los puntos conllevará un fallo en la localización del plano valvular mitral.

Por otro lado, cabe destacar que medidas cuantitativas de error de la distancia global entre los puntos predichos y etiquetados manualmente pueden no corresponder con la medida de precisión en la localización del plano valvular, ya que un mismo plano puede estar definido por cualquiera de los infinitos puntos que lo contienen. Para un mayor análisis, y aparte del cálculo de la distancia de los planos según el eje largo del corazón (Error(z) en la Tabla 1), se ha llevado a cabo una evaluación visual de los resultados obtenidos por la herramienta propuesta. Estos resultados se muestran en la Figura 3, donde se muestran 4 *frames* de los 3 pacientes de test incluyendo la segmentación y reconstrucción tridimensional del ventrículo izquierdo, aurícula izquierda y aorta de los *frames*, junto con los planos localizados manualmente (azul) y el estimado por la herramienta (verde).

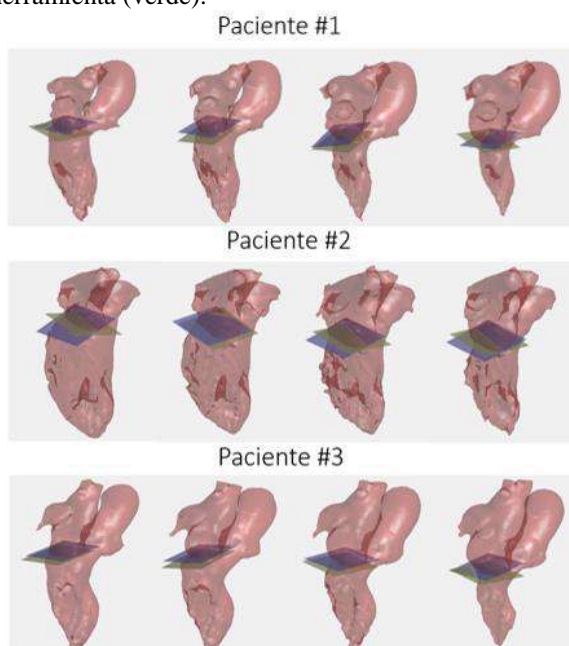


Figura 3. Resultados visuales de la predicción del plano mitral. Azul: Plano definido manualmente, verde: plano estimado a través de la herramienta propuesta.

En este caso, los resultados cuantitativos de error concuerdan con los resultados visuales, ya que los pacientes #1 y #3 con menor error son los que, visualmente, tienen una mejor detección del plano. Cabe destacar también que en aquellos casos donde falla la detección de un solo punto, la orientación del plano se convierte en errónea. Esto sobre todo ocurre en la localización de los puntos del plano sagital, donde normalmente se comete un mayor error, provocando un desplazamiento indeseado en la detección del plano. Los resultados fallidos obtenidos en el paciente de test #2 se pueden asumir a la diferente morfología y anatomía del corazón respecto a los datos de entrenamiento. Queda por tanto también destacada la necesidad de llevar a cabo un entrenamiento de la herramienta propuesta con un número mayor de datos, para poder recoger la mayor variabilidad anatómica posible. Aun así, los resultados son prometedores debido a que en la mayoría de los casos localiza la posición del plano correctamente con un error inferior a 2mm.

4. Conclusiones

Este trabajo propone un método basado en Redes Neuronales Convolucionales (CNN) para la detección automática del plano valvular mitral a partir de imágenes de CT cardíaco dinámico. Para abordar este problema, se propone localizar de forma automática tres de las intersecciones de los velos de la válvula mitral, que a su vez definirán el plano valvular. En cuanto a la resolución de esta localización del plano, se ha abordado el problema en dos fases diferenciadas, por un lado, la detección de aquellos planos óptimos para llevar a cabo la detección de los puntos de interés, y por otro, dado estos planos, la detección en si misma de los puntos. Para ello se han implementado y definido dos Redes Neuronales Convolucionales (CNN) específicas para la clasificación de las vistas óptimas y regresión de las coordenadas de los puntos bajo estudio.

Ambas CNN propuestas han sido entrenadas, optimizadas y validadas mediante una técnica de validación cruzada de 9 iteraciones, utilizando 72 *frames* provenientes de 9 pacientes diferentes. Por otro lado, la herramienta propuesta ha sido evaluada en un conjunto de *test* independiente en 24 *frames* de 3 pacientes diferentes, obteniendo resultados prometedores en la tarea de la localización automática del plano valvular mitral dado una secuencia dinámica de CT cardíaco. Para mitigar los posibles errores de la herramienta presentada, se propone también re-entrenar los algoritmos propuestos con un mayor número de imágenes para poder así contar con mayor variabilidad en la base de datos de entrenamiento y poder minimizar el error en la localización del plano valvular mitral en aquellos casos con anatomía compleja. También se propone el uso conjunto de CNN y Redes Neuronales Recurrentes (RNN) para incorporar conocimiento espacio-temporal en la localización del plano y para la extensión de la misma a los *frames* de diástole a partir de la detección en los *frames* de sístole. Las dependencias espaciales quedarán modeladas por las CNN, mientras que las dependencias temporales de la posición de los puntos bajo estudio serán capturadas por las RNN, pudiendo llegar así a resultados más precisos.

Referencias

- [1] V. Bertomeo, et al. Situación de la enfermedad cardiovascular en España. Del riesgo a la enfermedad. *Revista Española de Cardiología*, Vol. 8, Núm. Supl. E, pp 2-9, 2008.
- [2] Y. Bengia, et al. Advances in optimizing recurrent network. *International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (IEEE)*, pp 8624-8628, 2013.
- [3] Y. Yao, et al. On early stopping in gradient descent learning. *Constructive Approximation*, Vol. 26, pp 285-312, 2005.
- [4] C. Cortes, et al. L2 Regularization for Learning Kernels. *Conference on Uncertainty in Artificial Intelligence (UAI)*, Montreal, Quebec, 2009.
- [5] N. S. S. S. Dropout: A Simple Way to Prevent Neural Networks from Overfitting. *Journal of Machine Learning*, pp, 1929-1958, 2011.

Virtual reality applied to CROM measurement and rehabilitation

G. Calvo De Andrés¹, R. García-Carmona¹, E. Urendes¹, G. Caffarena¹

¹ Escuela Técnica Superior, Universidad CEU San Pablo, Madrid, Spain,
{gcalvod.calvo49,r.garcia.carmona,ejuresdes,gacaffe}@gmail.com

Abstract

We studied the possibility of using virtual reality equipment, more specifically the HTC Vive headset, for the rehabilitation of cervical injuries. We designed a small Unity application that measures the head rotation in space in three axes while the patient repeats certain movements and creates a report with all the values. We tested the program with seventeen asymptomatic individuals. Finally, we compared these data with the CROM (Cervical Range of Movement) values present in the literature. The ranges measured fall within these values, except for the neck extension. We conclude that this difference is probably due to reasons other than the headset precision, confirming that the HTC Vive is a good tool to measure CROM.

1. Introduction

Spinal disorders have a huge impact on the everyday life of those who suffer it, which, as a recent study shows, are about 4.9% of the global population [1], making the Global Burden of Disease Study consider it the main cause of disabilities [2]. The incidence of neck pain for one year ranges between 10.4% and 21.3% with the prevalence being higher in office and computer-related works. While between 33% and 65% of neck pain patients manage to recover after one year, most cases end up relapsing over a person's lifetime [3].

There are several rehabilitation techniques that can help those who suffer from this pain through active neck movement and a set of exercises [4], but it is difficult to keep track of the development of the patient since the measurements need to be taken as they perform these exercises. The best way to measure the patient's condition is by recording their CROM (Cervical Range of Motion) and how it develops with time. CROM is made up of six different neck movements, grouped in pairs, in three different axes: sagittal, axial and horizontal.

Several instruments can be used to take these measurements, from purely analogical goniometers and inclinometers, to more advanced devices based in electro-, magneto- and ultrasonography [5-9]. Nowadays the most popular equipment used for this purpose is the CROM device. However, this instrument, despite being quite reliable for the measures, presents a problem: recording the measured data can be difficult, since they have to be manually written down by the practitioner. Recently, though, IMU (Inertial Measurement Units) have been developed, and those can be easily integrated with an information system, making them able to record digitally the data.

Therefore, being able to measure the cervical range in an easy and convenient way can help in the diagnosis and rehabilitation of people that suffer from neck injuries and neck pain.

To do this, we propose the use of VR (Virtual Reality) technology to measure the CROM. We believe this is a good tool for this purpose, since the motion trackers inside some headsets are very good. However, one must consider that these devices measure the inclination relative to a plane that might be tilted in comparison to the floor plane [10]. We take this problem into account.

Another reason for using VR is that we aim to turn the rehabilitation process into an immersive game. This idea has already been tested in psychological rehabilitation [11] and has been implemented for physiological rehabilitation for strokes [12].

2. Proposed Solution

We decided to create a VR application to measure the patient's CROM with the headset. This application begins by showing a small room with a chair in the middle, so the user is not disoriented. The therapist should prepare a real chair and position it to match the one that can be seen inside the VR, so the user can sit onto it without falling down. All this, put together, tries to make the experience as comfortable and immersive as possible.

When the application launches, the patient sees a blue dot in front of them. This dot will follow wherever they look. The patient is then asked to sit comfortably on the chair, back against the backrest, feet on the floor and head looking forward; this is the initial position, to which the subject should return after each movement before beginning the next one.

The application will measure the movement in the three axes separately: first rotation, then extension and flexion, and finally lateral flexion. The application records six movements for each axis. Once all movements have been performed, the program generates a CSV document with all recorded angles.

The application waits until the patient is ready. This is signalled by pressing a trigger or button in a VR controller. When this happens, the application presents in front of the user a set of blue arrows that indicate the direction they are expected to move their head. If the patient moves their head in a dimension that they should not, with a tolerance of ten degrees, it will turn the blue arrows into red, to indicate that

the result is not being taken into account. They will turn blue when the error is corrected. Once the user has performed three repetitions for the first movement, measured by checking that the patient moves the head back to the original position, again with a tolerance of ten degrees, the application returns to standby; the arrows disappear and the dot returns, to indicate that the patient should return to the initial posture. Then, the application waits for the patient to get in a comfortable position once more and then press the trigger again, to begin with the next set of movements.

Figures 1 to 3 show some examples of what the user would see while using the VR application.

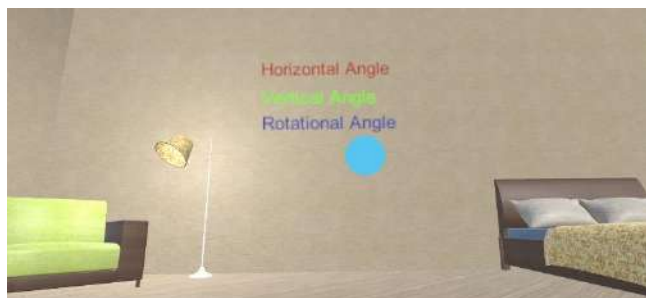


Figure 1. Dot that indicates the patient to return to the initial position.

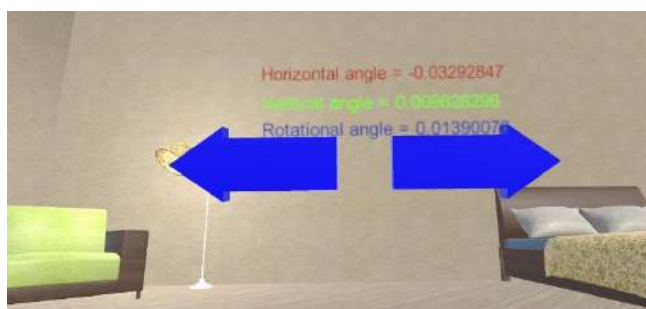


Figure 2. Arrows for the yaw movement.

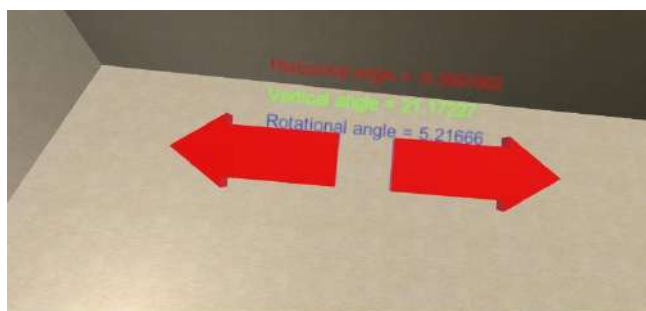


Figure 3. Example of moving in the wrong direction, the arrows turning red.

We decided to use of the HTC Vive headset, since a recent article describes it as a precise tool to measure the position and rotation in space of the head [10]. However, this device produces the angle measurements base on a plane tilted from the one the floor, and the patient is. The HTC Vive VR solution is made up of two controllers, two base stations (little boxes positioned in separate corners of the room) and the headset itself. The base stations work as non-visible laser lighthouses, allowing the headset and controllers to calculate their position and orientation relative to the base stations.

This allows a total of 6 degrees of freedom, three for rotation and another three for movement inside a space determined by the vision of the two base stations.

The tilted plane problem was overcome by performing a special calibration before recording the data. The application stores the headset position and rotation right before the patient begins the proposed movements and keeps recording with a frequency of 50 Hz, to calculate the angles in which the patient is moving their head.

We used Unity, a game development tool that allows us to easily develop a program for the HTC vive headset, that uses the programming language C#, to develop the application to test the headset. In order to measure the rotation, the headset returns a quaternion, which we then turned into three orthogonal vectors that define the rotation, one that points forward (vector z in figure 5), one that points left (vector x in figure 5) and one that points up (vector y in figure 5). In virtual reality, the naming of the movements of the head is different from those used in medicine. Therefore the extension and flexion of the neck is called the pitch movement, while the rotation on the horizontal plane is called yaw movement. Lastly, the lateral flexion or bending is named as roll movement. We will use this notation from now on.

We store the original rotation, the three vectors, to compare the rest of the rotations to them. We will refer to the three vectors from the original rotation as reference vectors. Then we calculate three orthogonal planes with the three reference vectors, with the formula shown in figure 4, in order to calculate the projection onto these planes of the rotations while the head is moving.

- To find the yaw angle, the horizontal rotation, we projected the forward vector on the plane formed by the forward and left reference vectors. We then proceeded to calculate the angle between this projection and the left reference vector and then subtracting ninety degrees, this way getting the angle with a positive or negative sign depending on if the patient is moving their head right (positive) or left (negative).
- To find the pitch angle, the extension and flexion of the neck, the process was the same but projecting the forward vector on the plane formed by the forward and up reference vectors, to later calculate the angle this projection had with the up reference vector that, after subtracting ninety degrees, made the values when the patient moves their head down positive while the values moving their head up would be negative.
- To find the roll angle, the lateral flexion of the neck, we calculated the projection of the up vector to the plane formed by the left and up reference vector, calculating the angle between the projection and the left reference vector and subtracting ninety degrees, this way making the movements to the right positive and the movements to the left, negative.

$$\text{Proj}_{\text{plane}}(\vec{v}) = (\vec{v} \cdot \hat{u}_1) * \hat{u}_1 + (\vec{v} \cdot \hat{u}_2) * \hat{u}_2$$

Figure 4. equation of the projection of a vector onto a plane.

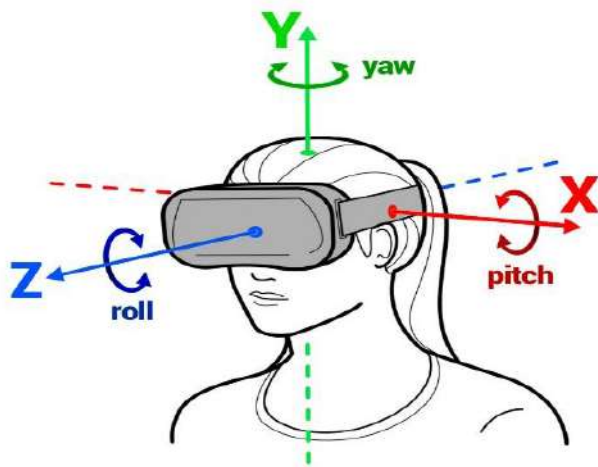


Figure 5. Vectors that define the head movements [13].

3. Validation

We used the application to measure the CROM of seventeen healthy asymptomatic individuals between eighteen and twenty-one years old, both male and female, with the protocol described above. The data was then analysed, giving us the mean and the standard deviation of the maximum and the minimum values recorded for each patient and movement.

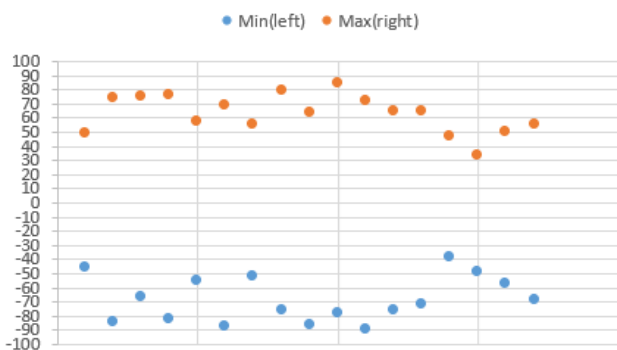


Figure 6. Yaw movement data

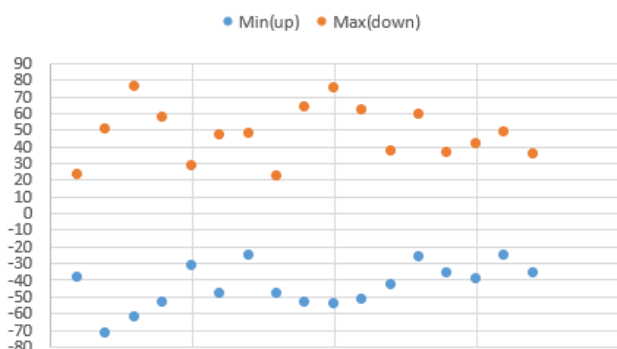


Figure 7. Pitch movement data.

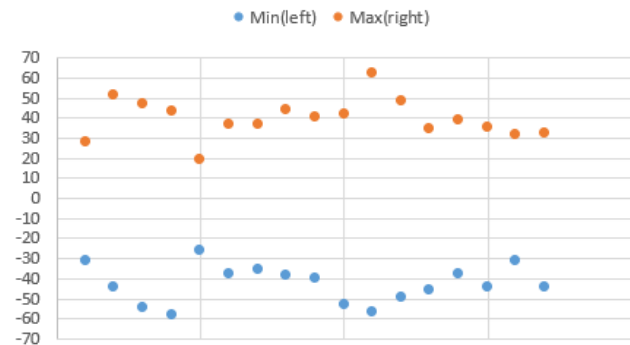


Figure 8. Roll movement data.

	Yaw		Pitch		Roll	
	Min (left)	Max (right)	Min (up)	Max (down)	Min (left)	Max (right)
Mean	-68.66	62.96	-43.25	47.56	-43.14	39.43
SD	13.61	10.98	11.02	13	7.67	7.33

Figure 6. Mean and standard deviations of the results obtained for seventeen asymptomatic individuals.

In order to validate the obtained results (see figure 6), we compared them with the range of values of CROM of other articles that had studied it. If we analyse the results for the yaw movement, the values of the mean movement to the right range between 58.9 degrees [14] to 71.6 [15], while to the left it goes from 60.2 [8] to 72.6 [15]. When it comes to the pitch movement, the mean value for the extension, went from 61.8 [8] to 68.1 [14] and for the flexion, the lowest value was 42.2 [8] and the highest was 54.1 [16]. Finally, regarding the roll movement, the range went from 33.2 [14] to 43.2 [15] on the right and from 35.1 [14] to 40.9 [15] on the left.

The mean values we observed fall between the range of values of the studies we saw, except in the case of the roll movement to the left, which is off by barely 2.24 degrees, and the pitch movement up, the neck extension, which presents a more significant deviation of around 18 degrees. The roll error is small enough to be ignored, but the pitch error is too big. It is also true that between the different articles, the flexion-extension of the neck is the movement that shows the biggest discrepancy. Given that the rest of the movements were precise enough in their measures, we can assume this error has a human origin rather than hardware origin; maybe the subjects didn't move their head enough because of the cables on the back of the headset.

4. Conclusion

As most of the values obtained aren't very different from those obtained from other articles when measuring CROM except for one of the six movements, this leads us to think that the process to measure that specific angle has been done wrong, either in the algorithm or when measuring the subjects CROM with the headset, so we will work on finding

and fixing the problem. As it is possible that this error comes from the patients helping themselves by moving their back in an attempt to improve the results, we will use a Vive Tracker, a device whose position and rotation can be tracked independently. Placing it on the patients neck or back will make the measures more precise, eliminating this error.

We also plan to apply this technology in the development of games for cervical injuries rehabilitation, making them more interactive and interesting than the current rehabilitation processes of simple repetition of movements, hopefully making it enjoyable so the patients continue with the rehabilitation over time, instead of dropping from it.

Summing up, the HTC Vive headset seems capable of measuring the CROM of patients with precision enough for rehabilitation of patients that suffer from cervical injuries. We plan to do this by developing games or applications controlled by the head movement.

5. Acknowledgements

We would like to thank all the volunteers that allowed me to measure their CROM.

6. References

- [1] Hoy D, March L, Woolf A, Blyth F, Brooks P, Smith E, Vos T, Jan B, Blore J, Murray C, et al. The global burden of neck pain: Estimates. The global burden of disease 2010 study. *Ann. Rheum. Dis.*, vol 73, 2014, pp 1309–1315.
- [2] Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, Shibuya K, Salomon JA, Abdalla S, Aboyans V, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, vol 380, 2012, pp 2163–2196.
- [3] Hoy D, Protani M, De R, Buchbinder R. The epidemiology of neck pain. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol*, vol 24, 2010, pp 783–792.
- [4] Cohen SP. Epidemiology, diagnosis, and treatment of neck pain. *Mayo Clin. Proc*, vol 90, 2015, pp 284–299.
- [5] Hole D, Cook J, Bolton J. Reliability and concurrent validity of two instruments for measuring cervical range of motion: Effects of age and gender. *Manu. Ther*, vol 1, 1995, pp 36–42.
- [6] Petersen C, Johnson R, Schuit D. Reliability of cervical range of motion using the OSI CA 6000 spine motion analyser on asymptomatic and symptomatic subjects. *Manu. Ther*, vol 5, 2000, pp 82–88.
- [7] Mayer T, Brady S, Bovasso E, Pope P, Gatchel RJ. Noninvasive measurement of cervical tri-planar motion in normal subjects. *Spine*, vol 18, 1993, pp 2191–2195.
- [8] Rheault W, Albright B, Byers C, Franta M, Johnson A, Skowronek M, Dougherty J. Intertester reliability of the cervical range of motion device. *J. Orthop. Sports Phys. Ther*, Vol 15, sup 3, 1992, pp 147–150.
- [9] Capuano-Pucci D, Rheault W, Aukai J, Bracke M, Day R, Pastrick M. Intratester and intertester reliability of the cervical range of motion device. *Arch. Phys. Med. Rehabil*, vol 72, 1991, pp 338–340.
- [10] Niehorster DC, Li L, Lappe M. The accuracy and precision of position and orientation tracking in the HTC vive virtual reality system for scientific research. *i-Perception*, vol. 8, sup 3, 2017.
- [11] Riva G. Virtual reality in psychotherapy. *Cyberpsychology & behaviour*, vol 8, sup 3, 2005, pp 220-30.
- [12] Jack D, Boian R, Merians AS, Tremaine M, Burdea GC, Adamovich SV, Recce M, Poizner H, et al. Virtual reality-enhanced stroke rehabilitation. *IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering*, vol. 9, sup 3, 2001, pp 308-318.
- [13] Article from the web page of Medium Corporation about the Importance of naming things in virtual reality. <https://medium.com/@tombalou/from-the-importance-of-naming-things-in-virtual-reality-fbc8a1a803a0> (Consulted: July 2018).
- [14] Audette I, et al. Validity and between-day reliability of the cervical range of motion (CROM) device. *journal of orthopaedic & sports physical therapy*, vol. 40, sup 5, 2010, pp 318-323.
- [15] Lantz CA, Chen J, Buch D. Clinical validity and stability of active and passive cervical range of motion with regard to total and unilateral uniplanar motion. *Spine*, vol. 24, sup 11, 1999, pp 1082-1089.
- [16] Tousignant M, et al. Criterion validity of the cervical range of motion (CROM) goniometer for cervical flexion and extension. *Spine*, vol. 25, sup 3, 2000, pp 324-330.

Design of a low-cost wireless hand rehabilitation device for stroke patients

I. Martínez Capella¹, E. Urendes¹, R. García-Carmona¹, C. Sanchez¹

¹ Escuela Técnica Superior, Universidad CEU San Pablo, Madrid, Spain,

{i.martinez66@usp.ceu.es, {[eloyjose.urendesjimenez](mailto:eloyjose.urendesjimenez@ceu.es), [r.garcia.carmona](mailto:r.garcia.carmona@ceu.es), [cristina.sanchezlopezpablo](mailto:cristina.sanchezlopezpablo@ceu.es)}@ceu.es }

Abstract

In the last years, there has been an increase in the number of rehabilitation systems designed for the upper limb. This body part is usually functionally restricted after suffering a stroke, which is the main cause of severe disability in Spanish adults. This paper presents a device oriented to the hand's rehabilitation made of low-cost commercial components, designed for both clinical and home. The system is composed by force sensor able to measure the force exerted by the user's fingers, as well as by an inertial sensor that registers the movements of the hand. Finally, the device is used to control a rehabilitation-oriented videogame with multiple difficulty levels, in order to promote the focus and level of participation of the patient. The objective of the device is to serve as a rehabilitation tool that provides the therapist with strength and range of motion measurements during the rehabilitation process.

1. Introduction

The stroke is one of the main causes of motor and cognitive disability. Every year, 120,000 new cases are detected, one occurring every six minutes [1]. The incidence of stroke is higher for individuals above 55 years and it is estimated that 23% of the population will be at risk of suffer it by the year 2050 [1]. The healthcare cost derived from its treatment already represents around the 3-4% of the annual health budget [2].

In 85% of the cases the upper limb movement is affected [3], so a greater number of rehabilitation systems are being developed with the purpose of recovering the functionality of this limb. Examples of the good results obtained by these systems can be seen in this study by Colomer et al. [4], making use of the Armeo@Spring, and the one presented by Shin et al. [5], employing the device RAPAE Smart Glove. There is a common pattern among some of these devices: to combine mechanical tools, that support and conduct the movements of the patient while performing an exercise, with a digital interface that provides objectives to the user while keeping a record of his or her activity, so that this information can be used to assess the therapy and to measure patient's progress.

The system developed for this work is focused on the recovery of the hand's functionality. This device registers hand movements (flexion/extension and pronation/supination of the wrist) and the press performed between the palm and fingers which allow characterize the force applied by the patient. The movements of the hand are

translated into mouse displacements and the forces into clicks. Finally, a videogame regulates the difficulty of the exercises and provides feedback to the user.

This device integrates a Bluetooth connexion (thus avoiding the need for the user to be physically connected to a computer). The paper is structured as follows: in section 2, the hardware device is presented; in section 3, the rehabilitation videogame is described; in section 4, the usability results are presented; finally, in section 5, the main conclusions are presented.

2. Hand rehabilitation device

The first version of the device was based on an Arduino Micro microcontroller, a Pololu AltIMU-10 v5 inertial sensor and a pair of FSR sensors (Figure 1). These components were placed inside a 3D printed structure attached to a glove, over the part corresponding to the back of the hand, being one sensor located at the palm and the other one, at the thumb. The data are processed in the microcontroller, which sent them through a serial connexion by USB cable to the computer.



Figura 1. *Previous versión: A-computer, B-Arduino, C-AltIMU, D-box and strap, E- FSR Button.*

This previous version of the device had some limitations that have been faced for the development of a second model. The use of a glove as support of the electronic components, as well as the models of microcontroller and inertial sensor, have been kept. At the same time, the USB communication has been substituted by a Bluetooth (BT) connexion with the computer and the FSR sensors, by a load cell (Aihasd). The advantage of this new sensor compared to the previous ones is that it can characterize the amount of force with which the patient is performing. The model used is the SEN-13329 (Sparkfun Electronics), based in strain gauges, which can measure forces up to

200N. A HX711 amplifier acts as a conditioning system for the gauges, while also providing a digital value according to the force applied to the load cell. A 9V battery is used as power source. These changes are explained in the following subsections. A diagram of the new setup can be seen in figure 2.

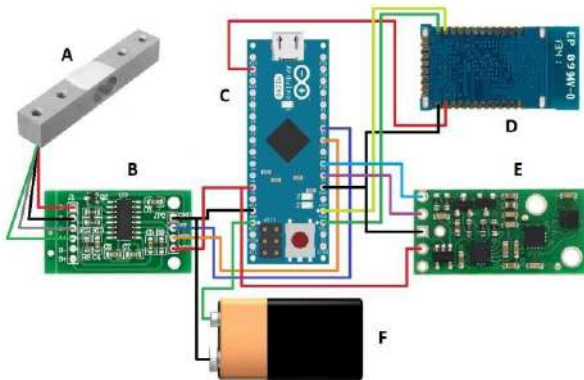


Figure 2. Electronic Scheme: A-load cell, B-amplifier, C-Arduino Micro, D-BT module, E-inertial sensor, F-battery

2.1. Bluetooth communication (BT)

The objective of this modification is to provide a greater commodity and freedom of movement to the patient when performing his or her exercises. The USB cable is removed, and the patient is not physically attached to the computer. A BT module is now responsible for communication between the patient and the machine.

Due to the necessity to simulate clicks and mouse movements, the module employed must be able to operate in Human Interface Device (HID) mode. The model that has been chosen is the RN42. This module offers multiple HID connection modes, such as keyboard, mouse or joystick. In this work, the combo mode has been implemented, which makes the RN42 act both as a keyboard and as a mouse simultaneously.

When the user exceeds a certain force threshold when pressing the load cell, the Arduino sends a hexadecimal command through the BT connexion, which is interpreted by the computer. Similarly, the hand's angular position is periodically obtained, and the cursor adjusted accordingly (Figure 3). Even if this way of transmitting data is slower than using a physical connection, the communication is still fast enough not to affect the use of the interface.

```
Serial1.write((uint8_t)0xFD);
Serial1.write((uint8_t)0x05);
Serial1.write((uint8_t)0x02); //Header
Serial1.write((uint8_t)pressing); //click
Serial1.write((uint8_t)(-x)); //X-stop
Serial1.write((uint8_t)(y)); //Y-stop;
Serial1.write((uint8_t)0x00); //wheel
```

Figure 3. Mouse movement command (Arduino). “pressing” is 1 when performing a click and 0 when not.

2.2. Load cell

As a previous step to its test with stroke patients, the linearity of the sensor has been obtained. To do so, the data corresponding to fixed weights up to 10.620kg have

been registered, whose results are shown in the following lines.

To test the linearity of the sensor, six measurements were made of six different weights. The result can be observed in the figure 4, where the dots represent the mean value of the measurements for each weight. The graph shows a good linearity for the device. Table 1 shows these values, whose mean square error is 3,13.

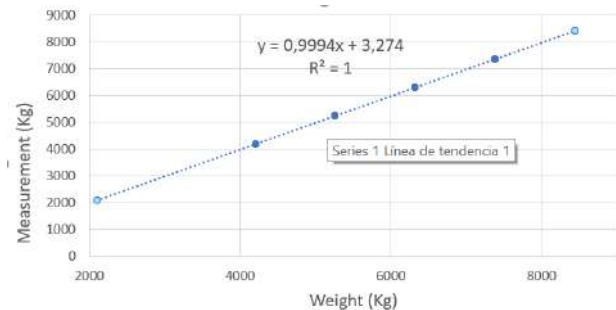


Figure 4. Measurements from 2100 to 8440 grams, at room temperature

Real value	2100	4200	5260	6320	7380	8440
Mean	2100	4202	5263	6321	7380	8436

Table 1. Mean values of the measurements of six different weights.

Relative standard deviation (RSD) has been measured, following the method employed in [6], as the quotient of the standard deviation and the mean of six measurements ($n=6$) of some weight_{*i*}. The equation used is (1) and result is of 0.00045279.

$$DSR = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{desv.estandar(masa_i)}{media(masa_i)} \quad (1)$$

The obtained results reflect a good behaviour of the sensor in similar scenarios to its use in the interface. The employment of a load cell allows an accurate characterization of the force exerted over it, providing more data (compared with an FSR), to the therapist at the time of evaluating the patient's activity.

3. Rehabilitation videogame

A videogame has been developed with Stencyl to set exercises to the patient and regulate their difficulty. The game simulates a basketball court, with a net and several balls, as can be observed in figure 4. To score a basket, the user must move the cursor, represented by a glove, up to a ball and then press over the load cell to grab it. Then, the patient must stay over the force threshold (adjustable to the patient's strength) while the cursor is moved to the net and finally release the grip to score. When a certain amount of points is reached, the user enters a new level. The difficulty will rise by increasing the number of points needed to pass to the next level or by making the net mobile. This way, the difficulty is progressive, and the user is kept motivated.



Figure 4. Example of one of the videogame's levels

4. Results

A usability test was performed as a previous step to the validation with patients. Six healthy subjects (3 males, 3 females) from ages between 19 and 45 years were asked to test the device and play the first two levels of the videogame. Afterwards, the users were asked to fill a questionnaire, outlined in the System Usability Scale (SUS) Template [7], with the following parameters, giving them a score from 1 (strongly disagree) to 5 (strongly agree):

1. I think that I would like to use this system frequently.
2. I found the system unnecessarily complex.
3. I thought the system was easy to use.
4. I think that I would need the support of a technical person to be able to use this system.
5. I found the various functions in this system were well integrated.
6. I thought there was too much inconsistency in this system.
7. I would imagine that most people would learn to use this system very quickly.
8. I found the system very cumbersome to use.
9. I felt very confident using the system.
10. I needed to learn a lot of things before I could get going with this system

The users required a few minutes to get used to the sensibility of the device. Some adjustments in the angle range need to be performed. Even so, the usability test gave a value of 85.5%. The results can be seen in Table 2.

Finally, the interface's prototype was taken to the hospital Beata María Ana (Madrid), where it was presented to an occupational neurologist and a therapist. It was considered as interesting the possibility of employing the device in the patient's home, the possibility of controlling the videogame by performing typical rehabilitation movements, as well as measuring the frequency of pulsation. Besides, it was proposed to measure the force exerted by the patient as a means of evaluation.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	4	2	3	1	4	1	4	2	3	1
B	4	1	5	1	5	1	5	1	5	2
C	5	1	5	1	5	2	5	1	5	1
D	3	2	4	1	4	2	5	2	5	1
E	4	1	4	1	3	3	5	2	4	1
F	5	1	4	1	2	2	5	2	5	1

Table 2. Results of the SUS questionnaire

5. Conclusions

The developed system allows the realization and regulation of exercises of the upper limb that target the hand's movements. A user interface has been designed so that the patient is able to control a videogame, using the fingers and the wrist, in order that rehabilitation exercises are performed while providing a means of abstraction and motivation. The interface is wireless and able to characterize the force exerted by the user, an information of clinical interest.

The final price of the device is around 90€. This device is a cheap solution compared to other systems available in the market, like the RAPAEL Smart Glove or the HandTutor or more complex orthosis systems like Armeo@Spring or the Gloreha Workstation. The developed prototype is presented as a rehabilitation tool opened to any professional or patient to be implemented and used for a low cost. The microcontroller's code, the 3D printing models, the videogame and the electronic diagrams have been uploaded to a GitHub repository [8], so they can be used by interested anyone.

Currently, it has been only used by healthy subjects. As future work, it is expected to test the device in stroke patients in the hospital Beata Santa María. In this way, medical and patient feedback will help to improve the system and adapt it to those exercises and measures of greater clinical interest. Besides, the usability of the interface will be studied with patients and the device will be compared to the widely used HandTutor.

Acknowledgements

This work would not have been possible without the materials and 3D printers provided by the CEU's Escuela Politécnica Superior.

References

- [1] Web page of the Federación Española de Ictus (FEI). <https://ictusfederacion.es> (Accesed: October 2018).
- [2] Martínez-Vila E, Irimia P, Urrestarazu E y Gállego J. El coste del ictus. *ANALES Sis San Navarra* 2000; 23 (Supl. 3): 33-38.
- [3] Web page of the Red Menni. dañocerebral.es (Accesed: October 2018).
- [4] Colomer C, Baldoví A, Torromé S, Navarro MD, Moliner B, Ferri J, et al. Eficacia del sistema Armeo@Spring en la

fase crónica del ictus. Estudio en hemiparesias leves-moderadas. *Neurología* 2013; 28:261-7.

- [5] Shin, Joon-Ho et al. Effects of Virtual RealityBased Rehabilitation on Distal Upper Extremity Function and Health-Related Quality of Life: A Single-Blinded, Randomized Controlled Trial. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation* 13 (2016): 17. PMC. Web. 31 Dec. 2017.
- [6] García, J. F. et al., Obtención de Repetibilidad, Histéresis y Linealidad de un sensor de flexión resistivo por medio de un instrumento virtual. Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- [7] Web page of the System Usability Scale (SUS). <https://www.usability.gov> (Accesed: October 2018).
- [8] Ignacio Martínez Capella, Upper Limb Rehabilitation Interface with Arduino, (2018), GitHub repository, <https://github.com/nachomcapella/Upper-Limb-Rehabilitation-Interface-with-Arduino>

Diseño y desarrollo de un modelo cardíaco 3d para la pedagogía en dispositivos cardiacos implantables

Alba Gutiérrez García - Ochoa¹, María Martín Méndez²

¹Universidad Europea de Madrid, Villaviciosa de Odón, España, albagarciachoa@gmail.com

²Medtronic Ibérica, Madrid, España, maria.martin@medtronic.com

Resumen

Este trabajo se centra en el diseño y desarrollo de un modelo de corazón para la pedagogía en la inserción de electrodos de dispositivos cardiacos implantables. Para ello, se ha realizado un estudio de la anatomía cardiaca y una investigación previa de los modelos ya existentes. Con esta información, y con imágenes médicas reales en 3D, se ha procedido a la segmentación y el modelado de las diferentes estructuras cardiacas. En el modelo que se ha obtenido cabe destacar que tanto el pericardio como los vasos son huecos, de manera que la inserción de electrodos es factible. El modelo de corazón se ha construido mediante impresión 3D con PLA transparente y flexible, resultando en un modelo deformable (similar a la densidad de las paredes cardiacas) y translúcido. La metodología propuesta es de bajo coste, permite la personalización de los modelos y ofrece unas prestaciones superiores a otros modelos comerciales, como la flexibilidad y la transparencia.

1. Introducción

La frecuencia cardíaca es el número de veces que se contrae el corazón durante un minuto. Si el ritmo cardiaco es perturbado, hablamos de arritmias, cuyo cuadro clínico puede variar entre síntomas completamente asintomáticos o leves, hasta síncope o muerte cardiaca. Para aliviar dichos síntomas, mejorar la calidad de vida y prologar la supervivencia del paciente, existen tratamientos farmacológicos, sin embargo, estos últimos años cada vez más han tomado importancia los tratamientos con dispositivos implantables [1].

Los dispositivos cardiacos implantables como marcapasos, desfibriladores o tratamientos de resincronización cardiaca cuentan con electrodos que son introducidos en las cámaras cardiacas. Su inserción es a través de una operación mínimamente invasiva, por vía intravenosa. Debido a la complejidad de dicha operación es necesario que los cirujanos tengan un conocimiento y entrenamiento previo en la inserción de dispositivos implantables. Una forma de conseguir esto sin emplear material biológico ni seres vivos es a través de modelos cardiacos artificiales fieles a los reales [1].

Los modelos cardiacos artificiales disponibles en el mercado actualmente están concebidos para el estudio de la anatomía cardiaca. Por ello, tienen gran cantidad de detalles anatómicos tanto en el interior como en el exterior del modelo. Sin embargo, carecen de oquedades en los grandes vasos y seno coronario, características imprescindibles para la inserción de electrodos. Además,

suelen ser opacos, lo que dificultaría la visualización de los electrodos en el interior del modelo [2-5]. Un ejemplo de modelo comercial cardíaco convencional puede observarse en la Figura 1.



Figura 1. Modelo cardíaco de dos piezas comercializado por 3B Scientific [5].

Ante la inexistencia en el mercado de modelos que nos permitan realizar este procedimiento quirúrgico, se ha optado por el diseño y desarrollo de un modelo 3D creado a partir de un TAC cardiaco de un paciente, que permita instruir a los cirujanos a implantar este tipo de dispositivos.

2. Materiales y métodos

Para la obtención del modelo cardiaco se han empleado diferentes softwares para la segmentación y procesado de imágenes médicas. Una vez obtenido el modelo 3D cardiaco, se empleó la técnica de impresión 3D por extrusión para obtener el prototipo físico final.

2.1. Imágenes médicas 3D y procesado de imagen

El proceso para la creación de un modelo cardíaco 3D comenzó con la elección de imágenes DICOM cardíacas. La imagen elegida pertenece al programa de procesamiento de imágenes Osirix [6] y su nombre es Magix. Su elección fue debida a que presentaba mayor resolución que las otras imágenes anteriormente consideradas. Magix es una imagen donde solo se muestra el órgano cardiaco con una resolución de 0,40x0,40x2 mm y 512x512x76 píxeles (ver Figura 2).

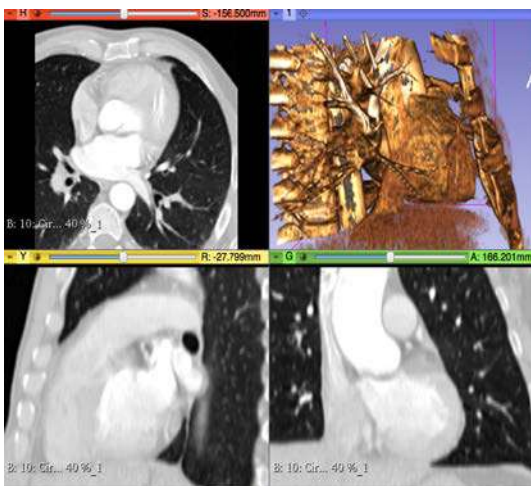


Figura 2. Visualización de imagen Magix en 3D Slicer

Para el procesado de la imagen y modelado 3D se emplearon 3D Slicer [7] y Blender [8] respectivamente, ambos programas *open source*. Utilizando los diferentes módulos de 3D Slicer, la imagen Magix se segmentó en diversas secciones, ya que el corazón es una estructura muy compleja. En concreto, obtuvimos los siguientes segmentos: ventrículo izquierdo, aurícula izquierda, ventrículo derecho, aurícula derecha, vena cava, arteria pulmonar, aorta y pericardio.

La segmentación se realizó a partir del algoritmo *Grow from seeds* (Crecimiento de regiones) que consiste en la selección de un conjunto de puntos semillas que posteriormente se expanden dependiendo de determinados criterios, como la intensidad de los píxeles adyacentes. De esta forma, se conseguiría la segmentación de una determinada región cardiaca. Sin embargo, todas las regiones fueron editadas de forma manual tras aplicar el algoritmo. Esto es debido a que el corazón es un órgano muy complejo y sus diferentes cavidades no estaban bien delimitadas en la imagen, de manera que los algoritmos no eran lo suficientemente precisos para distinguir las diversas cavidades cardiacas con exactitud.

2.2. Impresión 3D

La impresión 3D es un proceso en el cual el material se une o solidifica bajo el control de software para crear objetos en tres dimensiones. Los objetos pueden ser de cualquier forma o geometría y normalmente se producen a partir de modelos digitales [9]. Hay diversos tipos de tecnología de impresión 3D, pero nos centraremos solo en la impresión 3D por extrusión, pues es la técnica que empleamos para la impresión del modelo cardiaco.

La impresión 3D por extrusión, también llamada modelado por deposición fundida, es un proceso en el cual una máquina deposita un filamento de un material determinado (normalmente termoplásticos, cera o similares) sobre o junto al mismo material, para una unión por calor o adhesión. Los termoplásticos son plásticos que se convierten en semilíquidos a específicas temperaturas y vuelven a estado sólido cuando se enfrían. Una impresora por extrusión imprime objetos en tres dimensiones extruyendo un material derretido. De esta forma, a través de múltiples capas, se crea el objeto virtual que se quiere

imprimir. En ocasiones, debido a los ángulos del objeto, es necesario que se construyan soportes (piezas auxiliares que no pertenecen al objeto en sí) para que el modelo pueda ser creado [9].

El extrusor es la parte responsable de alimentar el filamento al llamado “extremo caliente”. Los extrusores son la parte de la impresora donde más difieren en los tipos de modelo, ya que algunas impresoras tienen integrado el extremo caliente con la “entrada de material” y otras lo tienen por separado. Algunas impresoras 3D tienen doble extrusor, lo que permite que la impresora pueda tener dos bobinas de filamentos de distintos materiales y dos extremos calientes [9].

3. Resultados

3.1. Selección de imágenes médicas y modelado

Con la segmentación obtuvimos los modelos 3D en bruto del corazón. Estos modelos son fieles a la realidad, con un tamaño y forma muy similar al corazón original. En la Figura 3, se aprecia el resultado final del proceso de segmentación y modelado 3D.

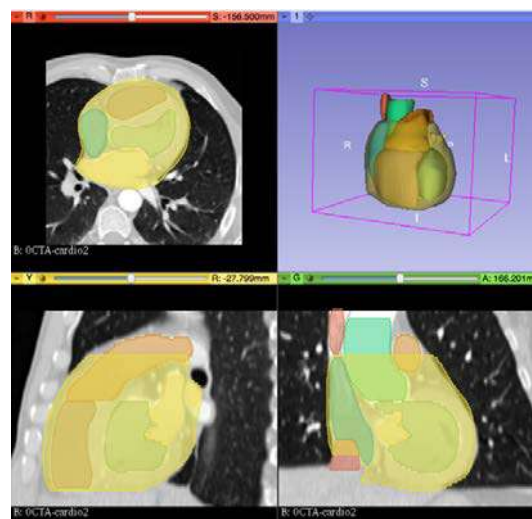


Figura 3. Segmentación final de la imagen cardiaca

Para hacer imprimible los modelos descritos anteriormente, se procedió a exportarlos a Blender, donde se editaron y modelaron. De esta forma, se consiguió un pericardio hueco, restando el pericardio con el resto de los modelos segmentados (aurículas, ventrículos y vasos). También se realizó la operación inversa, restando los vasos al pericardio. De esta forma, obtuvimos unos vasos de la longitud adecuada. Una vez que los vasos estuvieron separados del modelo, se editaron para obtener un hueco en ellos y así permitir que los electrodos puedan ser introducidos (Figura 4).

Debido a la resolución del TAC, detalles como las orejuelas, venas del sistema vascular del corazón o el seno coronario no son visibles en la imagen seleccionada. Por ello, para que estos detalles apareciesen en el modelo tuvieron que ser modelados posteriormente con la mayor precisión posible.

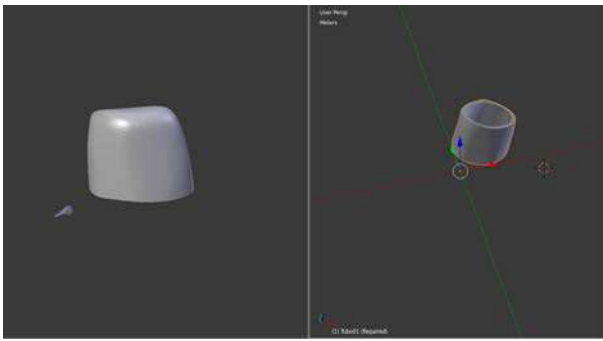


Figura 4. Ejemplo de vaso (aorta) donde se observa su longitud una vez restada con el pericardio (izquierda) y el hueco que se obtiene v tras el procesado (derecha)

El seno coronario tiene una función imprescindible para la implantación de los resincronizadores cardiacos, por ello, es necesario que este vaso esté presente en el modelo 3D. Es por eso por lo que se añadió en el interior del modelo conductos huecos (simulando el seno) para que la inserción de electrodos fuese posible (Figura 5).

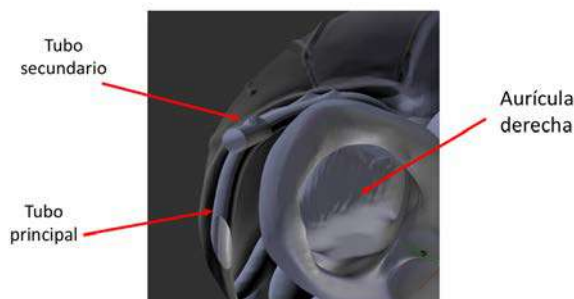


Figura 5. Vista interior del modelo donde se observan el tubo principal y secundario del seno coronario realizado en la pared del pericardio

Por último, al modelo se le añadieron pequeñas modificaciones para mejorar su ergonomía y su manejo posterior. Se le agregó un orificio en la parte posterior inferior para sostener el modelo con un soporte y, se dividió el modelo en dos partes para poder acceder fácilmente a su interior. Ambas partes se unen gracias a un conjunto de imagen situados en la pared del pericardio. En la Figura 6, se aprecia la versión final del modelo en 3D cardiaco renderizado con dos materiales, opaco rojo y transparente. En la parte inferior se puede observar la parte principal del modelo (parte A desde este momento) una vez que se quita la tapa (parte B desde este momento).

3.2. Impresión 3D del modelo

A partir de este modelo 3D, se imprimieron diversos prototipos con materiales y técnicas diferentes. Los primeros prototipos fueron realizados con PLA rígido para comprobar que el diseño tenía las características necesarias para su impresión.

Una vez que se mejoraron los prototipos iniciales, se comenzaron a imprimir prototipos más avanzados. Uno de ellos fue realizado en ABS y soportes en HIPS (con la técnica de impresión por doble extrusor), una combinación de materiales adecuada ya que ambos tienen temperaturas de fusión y extrusión similares. El modelo impreso se componía por varias partes: los vasos, la parte mayor del

pericardio (parte A) y la parte pequeña del pericardio (parte B). Estas partes, una vez impresas, se sumergieron en limoneno (disolvente de HIPS) y de esta forma todos los soportes fueron eliminados limpiamente y sin dejar marca en el modelo final. Sin embargo, y debido a la anatomía del seno coronario, el soporte de su interior no pudo ser eliminado, pues este vaso no tiene salida. Por ello, este prototipo se descartó, ya que la única solución para expulsar todo el material HIPS era la creación de un orificio auxiliar para expulsar el material, lo que supondría un empeoramiento en la estética del modelo.

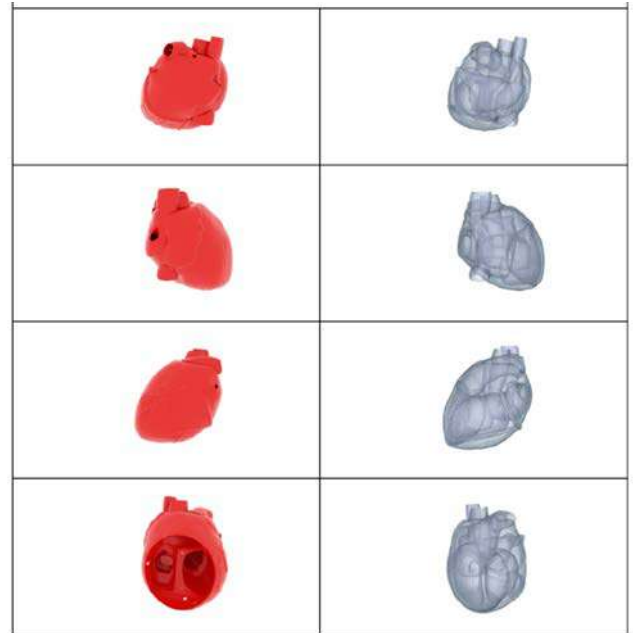


Figura 6. Comparación de las distintas vistas del corazón renderizado en material opaco y transparente

Tras diversas pruebas y prototipos, se procedió a la impresión de dos modelos finales, realizados todo ellos enteramente de PLA. Para solventar el problema descrito anteriormente, se decidió eliminar el soporte de impresión del seno coronario y reducir al máximo el número de soportes sin perjudicar el desarrollo de las estructuras de las piezas (eliminando así la necesidad de usar un segundo material). Los soportes restantes de la pieza, realizados en PLA, se eliminaron mediante métodos mecánicos de extracción de material. Además, una ventaja que supone realizar todo en el mismo material es el ahorro de tiempo de impresión, ya que solo se trabaja con un extrusor.

Estos dos prototipos finales fueron impresos en varias piezas, por un lado, la parte A y B, y por otro, los vasos, siendo necesario unir los vasos con la parte A para terminar el modelo. El primer prototipo fue realizado en PLA flexible (con una densidad similar al tejido cardiaco) y transparente y el segundo, de PLA rígido rojo y opaco (Figura 7). Cabe destacar que el prototipo de PLA flexible transparente es únicamente translúcido. Esto es debido a que con la tecnología 3D por extrusión es muy complicado conseguir un acabado transparente con diversas capas, ya que cuánto mayor sea el número de capas menor transparencia.

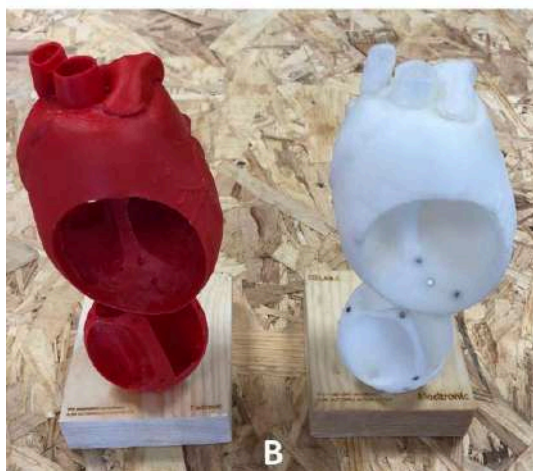
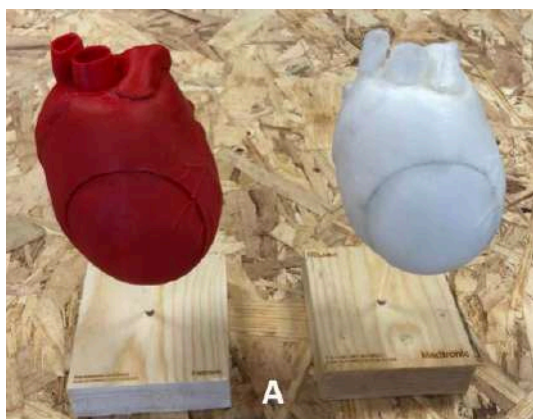


Figura 7. A) Comparación de modelo PLA rígido rojo (izquierda) y modelo PLA flexible transparente (derecha) ambos con las tapas cerradas; B) comparación de modelo PLA rígido rojo (izquierda) y modelo PLA flexible transparente (derecha) ambos con las tapas abiertas

4. Conclusiones y líneas futuras de trabajo

El modelo 3D y los prototipos finales impresos son aptos para la inserción de los electrodos de los dispositivos implantables, lo que les diferencia de otros modelos tanto experimentales (procedentes de estudios de investigación) como de modelos comerciales, ya que los modelos de investigación están orientados la mayoría de ellos a procesos quirúrgicos y los comerciales al estudio de las estructuras cardiacas, careciendo, todos ellos, de vasos y seno coronario huecos. Por ello, el modelo presentado en este documento supone la solución para la pedagogía en la inserción de electrodos de dispositivos cardiacos.

En un futuro, sería interesante investigar diversas opciones de fabricación con diferentes máquinas de impresión y/o cabezales, ya que podría suponer una mejora para futuros modelos cardiacos, al igual que probar distintos materiales de fabricación para hallar una combinación definitiva con un acabado limpio.

Por otro lado, para que ciertos catéteres pudiesen adherirse a las paredes del modelo pericárdico sin dañar el modelo, la adhesión de pequeños parches similares al tejido cardiaco en las zonas donde se insertan los electrodos podría dar aún más realismo en la enseñanza de la inserción de cables de dispositivos cardiacos. Dichos parches serían

recambiables, ya que estarían sometidos a un constante deterioro debido a las inserciones continuas de electrodos.

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecer a Medtronic por darme la oportunidad de realizar este proyecto, en especial a María. También quiero agradecer a José Real y a todo su equipo de Fablab UE por toda la ayuda que me han brindado durante todo este largo camino. Por último, quiero dar las gracias a Borja Rodríguez por introducirme a este complejo campo de la imagen médica y modelado 3D.

Referencias

- [1] Laizzo P. HandBook Of Cardiac Anatomy, Physiology, And Devices. Human Press, 2005.
- [2] Realityworks. Human heart model. Recuperado de <https://www.realityworks.com/products/human-heart-model>
- [3] Sakamoto Model Corporation. Heart anatomy model. Recuperado de <http://www.sakamoto-model.com/product/model/s152/>
- [4] Sawbones. Heart. Recuperado de <https://www.sawbones.com/heart-full-size-2-piece-opens-in-half-showing-inner-chambers-valves-aortic-arch-superior-inferior-vena-cava-pulmonary-cardiac-veins.html>
- [5] 3b Scientific. Corazones Clásicos. Recuperado de https://www.3bscientific.es/corazones-clasicos-en-2-piezas-1017800-g08-3b-scientific,p_33_283.html
- [6] Osirix [Software]. Recuperado de <http://www.osirix-viewer.com>
- [7] Slicer (4.8.1) [Software]. (2017). Recuperado de <https://www.slicer.org>
- [8] Blender (2.79b) [Software]. (2018). Recuperado de <https://www.blender.org>
- [9] Kamran M, Saxena A. A comprehensive Study on 3D Printing Technology. MIT International Journal of Mechanical Engineering, vol 6, sup 2, 2016, pp 63-69 (ISSN 2230-7680)

CHARACTERIZATION OF GRAPHENE OXIDE DOPED WITH METAL NANOPARTICLES AND ITS INTRINSIC ANTIMICROBIAL PROPERTIES

A. Benito Alonso¹, A. Tobajas Guardia¹, A. Cerpa Naranjo¹

¹ Escuela de Arquitectura, Ingeniería y Diseño, Universidad Europea de Madrid

Abstract

Nanomaterials and nanoparticles have great potential in the biomedical field. Physicochemical properties of graphene oxide nanoparticles and their composites doped with metallic copper and silver were characterized by the Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). These nanoparticle suspensions were tested on Candida albicans and Clostridium Difficile, as both microorganisms have shown antimicrobial resistance to their actual treatments. NTA results show that the more sonication time applied to a dispersion, the more stable the obtained particle size of the dispersion is as no conglomerates are formed. The biological results of Candida albicans, show that copper exhibit the best antifungal activity during the minimum inhibitory concentration (MIC). Under the same concentration and incubation conditions of Clostridium difficile, graphene oxide-copper had the highest antibacterial properties. The incubation of both pathogens in graphene oxide-copper caused the destruction of the cell integrity and therefore, cell death.

1. Introduction

Nanoparticles research is an increasing research field, most especially in biomedical research. Nowadays some bacteria, virus or fungi are creating resistance to antibiotics, therefore there is the need to develop new materials to fight against them [1]. Antimicrobial resistance (AMR) is defined as the process when microorganisms resist medications that are purposely designed to treat infectious disease caused by such harmful pathogens. This is mainly caused due to mutations.

The pathogens studied in this paper are *C.difficile* and *C.albicans*. The first pathogen is an anaerobic bacterium that lives in the intestine of individuals and generates severe diarrhoeas when triggered [2]. The second pathogen is a fungus which is the 4th greatest cause of bloodstream infections worldwide [3]. Currently, *C.difficile* is treated with metronidazole and *C.albicans* with clotrimazole. Both drugs are effective but *C.difficile* has already started to show resistances to the treatment [1].

In previous research papers, nanoparticles by themselves were not capable of inhibiting the growth of *Candida* and when mixed with drugs to generate the synergetic effect [4].

The main purpose of this research work is to investigate the minimum concentration of metal nanoparticles required to prevent growth of both pathogens. The minimum inhibitory concentration (MIC) of metal nanoparticles was determined by broth microdilution assays [5].

2. Materials

The materials applied on this paper are Graphene oxide doped with Cu and Ag nanoparticles. Both metals have shown to have a long spectrum of anti-microbial properties and Graphene oxide has proven to be an ideal metallic carrier [6].

Direct Light Scattering (DLS) [7] was applied to achieve information about the physicochemical properties using the nano tracker analyzer (NTA) NanoSight LM10 (Marlvern Panalytical, UK). The NTA measures the size and particle concentration of the suspension by striking a laser beam over it and recording a video of the suspension going through the microscope.

Three different materials were used as antibiotic nanoparticles, these were graphene oxide, silver and copper.

3. Methods

3.1. Sample preparation

The use of different solvents is proposed to analyze the interaction between the nanoparticles and the particles inside the solvents. For preparing the different solutions, two solvents were used (0.9% NaCl solution and extra-pure deionized water). NaCl solution tries to simulate the saline concentration that is found in the human anatomy. The nanoparticles and metals were then weighted using analytical balance. The first treatment was pure graphene oxide in a solution of deionized water, the second treatment was graphene oxide doped with silver, the third treatment was graphene oxide mixed with copper and the last treatment was graphene oxide mixed both metals, in two different ratios 96% GO30 and 2 % of the other 2 metals or 96% GO30 with 4% of a specific metal.

These analytes were then mixed with extra-pure deionized water (20 ml), making a stock solution of 0.1% wt/v. The solutions described above were then sonicated at two different sonication times - first 2 minutes and, later on, 30 minutes - at 53% of the maximum amplitude with an applied pulse sequence (ON time of 20 seconds and an OFF time of 5 seconds). A cold-water bath (10 C°) was used to cool down the sample after every 10 minutes of sonication and this process was repeated until the total sonication time reached thirty minutes. Four different solutions were prepared, in a final concentration of 0.005%, 0.01%, 0.025% and 0.05%.

3.2. NTA Characterization

Prior each sample analysis, 2 ml of blank solvent (pure water or saline) was first applied to fill the chamber and to ensure the device is clean (particle free). When analyzing nanoparticle suspensions, all measurement began with the lowest concentration and finished with the highest dilution suspension sample. This process was repeated three times to get proper results. NTA chamber was thoroughly cleaned using Ethanol and dried using compressed air in between experiments.

3.3. In vitro antifungal experiments of *Candida albicans*

The *Candida* strain Y100 was placed on a petri dish and incubated with Yeast Peptone Dextrose or Fetal Bovine Serum for 24 hours at 37°C. Afterwards, it was centrifuged (Hettich centrifuge, EBA200) at 6000 RPM for 5 minutes and resuspended in Phosphate-buffered saline (PBS). It was then centrifuged again and resuspended in a cellular medium, RPMI. It was then placed in a Neubauer chamber and diluted until a cell concentration of 10⁴ cells/ml was achieved. In a 96 multiwell, 100 microliters of the suspension plus another 100 microliters of the nanoparticles were added. The multiwell was incubated for another 24 hours. Then 100 microliters XTT dissolve in PBS was applied and after two hours of incubation the results were obtained by using the SpectroStar nano (BMG lab).

3.4. In vitro antifungal experiments of *Clostridium difficile*

The concentrations of nanoparticles used in this assay were 0, 7, 15, 31, 62, 125, 250, 500 µg/ml (See Table 1). Serial dilutions of metal nanoparticles were prepared in Schaedler Anaerobe Broth and aliquoted in microtitre plates. Control rows were added in the 96-multiwell to ensure the culture was growing healthy without any treatment, and to ensure the cultures were not infected. Metronidazole rows were added to ensure the bacteria was not resistant to the antibiotic.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Types of Nanoparticles(µg/ml)											
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	0.015
C	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	0.03
D	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	0.0625
E	62	62	62	62	62	62	62	62	62	62	0.125
F	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125	0.25
G	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	0.5
H	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	1

Table 1. Nanoparticle concentration & distribution. GO; Red GO+Ag; Green GO+Cu; Orange GO+Ag+Cu; Yellow Blanks; Dark blue Clotrimazole Dark Orange

After the culture was added to the 96-multiwell plate following the distribution shown in Figure 1, a 24h and 48h reading was done. The 24 hours reading was done inside the anaerobic cabinet, to avoid the bacteria in contact with

oxygen. The wells that look turbid means that there has been growth, and it is necessary to take note of this. Also take note of the wells that do not show any growth. The 48-h reading was done outside the anaerobic cabinet.

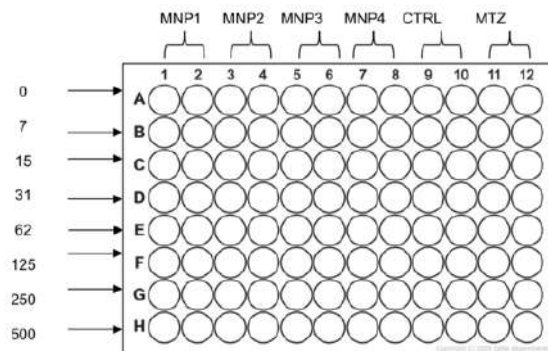


Figure 1. *C.difficile* multiwell scheme. GO30 (MNP1), GO30+Ag (MNP2), GO30+Cu (MNP3), GO30+Ag+Cu (MNP4), Control (CTRL) and Metrodinazol (MTZ),

4. Results

Figure 2 shows the difference in particle size: when the sample was sonicated at longer times, it shows a more stable pattern and a smaller standard deviation.

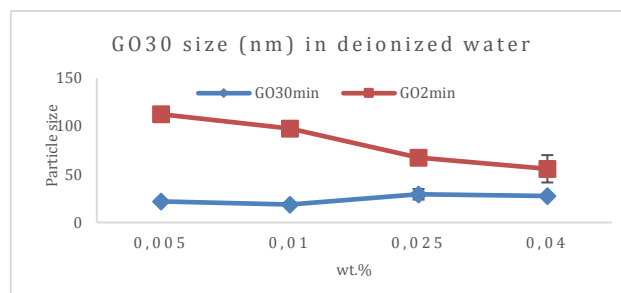


Figure 2. Graphene oxide (GO30) sonicated at 2 and 30 minutes

The values of Table 1 were obtained by taking the highest MIC values after generating the two different repetitions of *Clostridium Difficile*. This table shows that the lowest MIC value found in this study is graphene oxide mixed with copper, showing a value of 32 µg/ml, while pure graphene oxide shows a value higher than 500 µg/ml. Metronidazole showed a constant MIC value of 4 µg/ml.

	GO30	GO30+Ag	GO30+Cu	GO30+Ag+Cu
ATCC700057	>=500	250	32	>=64
CD24	>=500	250	32	>=64
R20291	>=500	250	64	>=64

Table 2. Final MIC concentrations for the three different strains of *C.difficile*

Table 3, shows results obtained when the *C.albicans* was mix with the different nanoparticle suspension in the YPD medium. The pattern in this case is stable and most samples could not decrease the viability under the 50%.

	GO30	GO30+Ag	GO30+Cu	GO30+Ag+Cu	GO30+CuO 50%	CuO 100%
7	96.21	94.7	93.89	92.76	83.12	80.08
15	99.52	99.52	93.45	96.76	83.3	83.3
31	106.5	100.5	94.95	100.5	80.34	80.34
62	100.6	100.89	94.98	100.56	85.61	79.29
125	100.6	103.76	87.17	97.93	85.82	74.03
250	97.7	104.01	90.57	97.7	86.13	63.48
500	109.1	109.1	86.02	94.82	75.92	49.03

Table 3. Final MIC values for the different types of nanoparticles applied on *C.albicans*

In Figure 3, the obtained results have a major standard error and do not correlate to the ones obtained in Table 3. Furthermore, the applied concentrations in this experiment and the viability results do not show any understandable pattern.

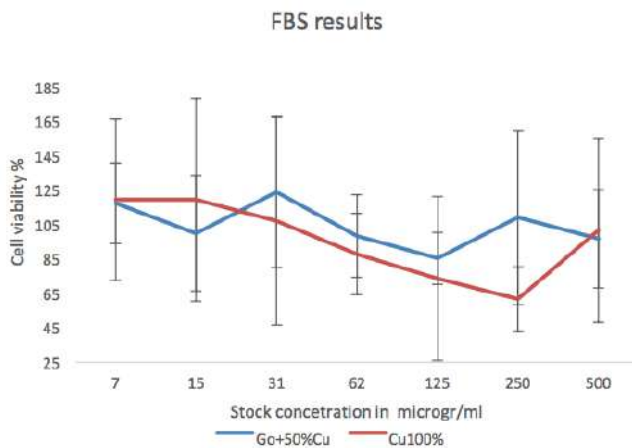


Figure 3. Final MIC in FBS for the Cu100% and GO30+50%Cu

5. Discussion

Regarding the sonication time, it is of vital importance to achieve a consistent result from sample sizes. Figure 2 illustrates that these types of samples of GO30 require a minimum 30 minutes sonication period to achieve the dispersion of the nanoparticles. However, if the sonication time is less than the stated time period - for instance, 2 minutes -, the sample size obtained has a higher error and varies greatly between one sample concentration and the following one.

When preparing the diluted concentrations of the nanoparticles mixed with metals, these were the conclusions regarding the 0.016 g of graphene oxide + 0.004 g of copper nanoparticles. First, as shown in Figure 4, concentration values do not follow any type of pattern; this is because the recording of the video did not work as expected. Metal nanoparticles reflect the scattered light of the machine and that increased the noise shown in the video. Second, size values are not significant; they vary from 20 nm to 75 nm Figure 5. The standard deviation is

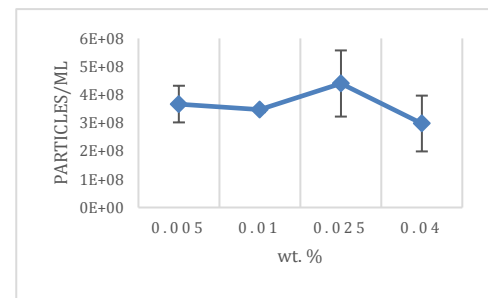


Figure 4. GO30 particle concentration results after a sonication time of 30 minutes

vast, which means that both recordings, even using the same parameters to record the video, were different.

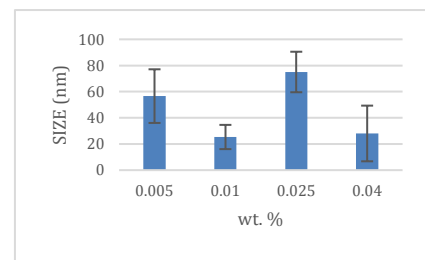


Figure 5. GO30 particle size results after a sonication time of 30 minutes

None of the GO30 doped with the different metal nanoparticles exhibit any kind of *Candida albicans* viability reduction. This suggests that the stress applied by the graphene was not enough to inhibit the growth and break the membrane of the pathogen. The only sample which exhibits a small inhibition of the cellular growth was the one which was doped with Cu.

In *Clostridium Difficile* tests, these nanoparticles will be labelled as resistant, as the MIC values found are higher than 32 µg/ml. Based on these results, copper could be a potential antibiotic if the concentration of the solutions is increased.

Metronidazole worked as expected during all the experiments developed in this study. The MIC values of this antibiotic are never higher than 4 µg/ml, which is named as potentially good antibiotic. These MIC results matches with the expected results. The strain CD630 showed more susceptibility to oxygen, so this study could not be completed.

6. Conclusions

Stable graphene oxide suspensions were produced using extended sonication times and this was validated with the observed consistent particle sizes and distributions measured at real-time using NTA by the dynamic light scattering (DLS) technology. However, the nanoparticles did not provide informative results due to the reflection of the beam light of the microscope.

The graphene oxide (GO30) applied has proven not to be efficient against *Candida albicans* for the GO/Metal relation used. This effect could be of interest to study in

further investigations along with the use of a bigger particle of graphene oxide.

Cu 100% was the only applied nanoparticle from which the MIC could be calculated at 500 µg/ml, obtaining a cell viability of 49.03%. As the value is so close to 50% this is not certain and higher concentrations of copper oxide should be used in future experiments to determine these.

Regarding the *Clostridium difficile* MIC results, this study conclude that graphene oxide nanoparticles do not affect the life cycle of the microbe, but that Cu nanoparticles are able to inhibit the growth of the bacteria. Regarding Ag nanoparticles, they do not show good antibiotic properties: the MIC results were of values of 250 µg/ml, which is an extremely high value. The metal nanoparticles were never tested solely, they were always fused with graphene oxide nanoparticles, which can suggest that testing the metal nanoparticles could have good antibiotic properties.

To conclude, analyzing the results, metal nanoparticles are not going to replace current antibiotics (Metronidazole), but this could be the starting point of knowing how to avoid the formation and germination of *Clostridium difficile* spores.

It would be necessary to obtain more information about the metal nanoparticles. After the experience of this study, it would be recommended to do it with a methodology that does not include a beam of laser, due to the reflection of these particles.

This study has a promising further development in the biological field when speaking about spore formation and spore germination assays. It would be necessary to increase the concentrations of Cu. It would be recommended to apply copper nanoparticles alone, in the same concentrations as in this experiment (7 to 250 µg/ml), and repeat the procedures explained in this report to obtain a precise MIC value. Also, the relation between GO30/Metal can be changed.

Hospitals get infected with spores of *Clostridium difficile* and traditional cleaning methods are not efficient, bleach is recommended to disinfect the surfaces, but a lot of research is still going on to find new methods on how to clean these spores. To advance these assays, the MIC values for each treatment is needed.

7. Acknowledgments

Many thanks to Borja Rodriguez Vila for his help in the preparation of this paper and to the team of microbiology at the University of Hertfordshire for letting us the different cultures. *Clostridium Difficile* strains (UH culture strain code-CD24, CD111 (ATCC500075), CD630, R20291) and *Candida albicans* Y100.

Special thanks to Dr Ren Guogang and Dr Yuen-Ki Cheong for the helpful comments and introduction to this topic as well as the support throughout this research. Many thanks to the supervisors from UEM, Dr Arisbel Cerpa Naranjo and Dr Maria Piedad Ros Viñegla, for the support and the introduction to the project. Finally, special thanks to Dr Shan Goh and Dr Laxmi Kerai for their experienced advice in order to complete the studies successfully.

8. References

- [1] P. Spigaglia, "Recent advances in the understanding of antibiotic resistance in *Clostridium difficile* infection," *Therapeutic Advances in Infectious diseases*, vol. 3, pp. 23-42, 2015.
- [2] A. J. Forster, M. Taljaard, N. Oake, K. Wilson, V. Roth, and C. van Walraven, "The effect of hospital-acquired infection with *Clostridium difficile* on length of stay in hospital," *Canadian Medical Association Journal*, vol. 184, pp. 37-42
- [3] G. Ramage, S. Saville, D. Thomas, and J. L. Lopez-Ribot, "Candida Biofilms: an Update†," 2005].
- [4] A. Singh, A. Asar, and P. Kashi N, "Antibiofilm and Membrane-Damaging Potential of Cuprous Oxide Nanoparticles against *Staphylococcus aureus* with Reduced Susceptibility to Vancomycin," 61, 2015.
- [5] I. Laboratories, "Microbiology Guide to Interpreting Minimum Inhibitory Concentration (MIC)," ed. Research Gate, 2013.
- [6] T. Lammel, P. Boisseauz, M.-L. Fernández-Cruz, and J. M. Navas, "Internalization and cytotoxicity of graphene oxide and carboxyl graphene nanoplatelets in the human hepatocellular carcinoma cell line Hep G2," *Particle and Fibre Toxicology*, vol. 10, p. 27
- [7] B. O'Connor, A. j. Baeumner, and L. Vicent, "Using Nanoparticle Tracking Analysis (NTA) to Assess Nanoparticle Toxicity in Waste Water," *AzoNano*, 2015.

Caracterización histológica de la piel dorsal de ratones *Wild type* y transgénicos *Sox2/GFP* jóvenes y viejos en estado basal

I. Prieto Fernández¹, L. Yndriago² and A. Izeta²

¹Tecnun, Universidad de Navarra (UNAV), Donostia, a903908@alumni.unav.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Biodonostia, Donostia

Resumen

El mantenimiento, la reparación y la regeneración dérmica dependen de un conjunto heterogéneo y mal definido de células madre dérmicas adultas Sox2+ (CMD). Para comprender mejor la identidad y función de las células madre dérmicas, se envejeció de forma natural el modelo de ratón haploinsuficiente Sox2/GFP con el objetivo de comprobar si la capacidad funcional de las CMDs se ve afectada como consecuencia del envejecimiento natural, y si el efecto se agrava debido a la reducción en los niveles de expresión de Sox2. Para poder llevar a cabo este estudio, se obtuvieron y procesaron las muestras de piel de cada animal y se realizaron las tinciones correspondientes con el fin de poder evaluar una serie de parámetros asociados con el envejecimiento, como son: el grosor de las diferentes capas de la piel, los folículos pilosos, la celularidad dérmica y el contenido relativo y la orientación de las fibras de colágeno. Los resultados obtenidos demuestran la implicación de los niveles de expresión de Sox2 en la regulación de los distintos compartimentos dérmicos.

1. Introducción

La piel es la cubierta externa del cuerpo, y en los humanos desempeña un papel inmunitario importante, siendo su principal función la de proporcionar protección contra los agentes externos. Además, este órgano también desempeña un papel fundamental en la sensación, la termorregulación, la absorción de nutrientes, la retención de líquidos y la síntesis de vitamina D.

Se cree que el agotamiento de las células madre es la base de la disminución observada en el potencial regenerativo de diversos tejidos en la vejez [1]. La piel está permanentemente expuesta a factores de envejecimiento externos, como por ejemplo la radiación solar, lo que provoca que se vayan acumulando cambios intrínsecos y extrínsecos con la edad [2]. En áreas no expuestas a la luz solar, el envejecimiento intrínseco resulta en un estrechamiento y deshidratación de la piel, pero también en una reducción de la celularidad y una composición alterada de la matriz extracelular [3]. Debido a que los compartimentos epidérmico y dérmico se mantienen en el adulto a partir de poblaciones de células madre [4], es relevante estudiar si estos grupos de células madre adultas se vuelven disfuncionales en la vejez.

El factor de transcripción Sox2 es un regulador clave del destino de las células madre, incluidas las células madre adultas [5]. En la dermis, y en condiciones de homeostasis, las células madre dérmicas Sox2+ residen en los compartimentos dérmicos asociados al folículo piloso [6], así como envolviendo a los nervios periféricos, consistente con una identidad de células de Schwann [7]. En este proyecto, envejecimos de forma natural el modelo de ratón Sox2/GFP, haploinsuficiente en los niveles de expresión de Sox2, para demostrar si la capacidad funcional de las células madre dérmicas envejecidas se veía afectada en el contexto de niveles reducidos de expresión de Sox2.

2. Materiales y métodos

2.1. Modelo animal

Para la realización de este proyecto se utilizaron un total de 12 ratones hembra, de acuerdo con las directrices españolas y europeas pertinentes y una vez aprobado el estudio por el Comité de Bienestar Animal de Biodonostia. En concreto, se usaron ratones Sox2^{+/+} (WT) y Sox2^{+GFP} (TR), que fueron amablemente cedidos por el Dr. K. Hochedlinger (Universidad de Harvard). Por otra parte, la edad límite establecida para ser considerado como joven fue menor a 2 meses y como viejo mayor a 19 meses. En este trabajo, los 12 animales se dividieron en cuatro grupos diferentes con 3 ratones cada uno dependiendo de la edad (joven o viejo) y el genotipo (WT o TR).

2.2. Procesamiento de las muestras

Muestras histológicas de piel dorsal de 1 cm² se fijaron durante toda la noche a 4°C en Histofix® (PanReac) y después se procesaron en un procesador de tejido automatizado MTM (SLEE medical) antes de su inclusión en bloques de parafina. Se tiñeron secciones de 5 µm de grosor con hematoxilina-eosina para poder estudiar el grosor de las diferentes capas de la piel y hacer un recuento de folículos pilosos y núcleos dérmicos (celularidad). Para poder estudiar el contenido de colágeno y cuantificar la orientación de las fibras, las secciones de tejido se tiñeron con PicrosiriusRed.

2.3. Adquisición de imágenes y cuantificación

Las imágenes se adquirieron en un microscopio de fluorescencia Eclipse 80i (Nikon) usando el software NIS elements-AR (v.3.2). Todas las imágenes y cuantificaciones fueron procesadas usando el programa ImageJ (v.1.49).

2.4. Cuantificación de la orientación de las fibras de colágeno

Para medir la orientación de las fibras de colágeno se desarrolló un algoritmo basado en un artículo previo [8]. Los pasos clave del proceso vienen resumidos en el diagrama de flujo de la Figura 1 A. En primer lugar, las imágenes se cargaron en ImageJ y se les aplicó un filtro mediano para reducir el ruido. Una vez filtradas, las imágenes se pasaron a MATLAB, donde se convirtieron a escala de blanco y negro. A continuación, se aplicó un filtro de Gabor en cuatro direcciones diferentes (0°, 45°, 90° y 135°) con el objetivo de detectar y amplificar las fibras de colágeno en dichas direcciones. Como resultado se obtuvieron 4 imágenes diferentes, una por cada orientación. El siguiente paso consistió en aplicar una ventana tipo hann, ya que, tras realizar varias pruebas, se observó que este tipo de ventana era la más apropiada para evitar las líneas horizontales y verticales que aparecen en el dominio de frecuencias debido a las discontinuidades en los bordes de una imagen estándar. Las imágenes resultantes se volvieron a cargar en ImageJ, donde se les aplicó un filtro pasa banda para atenuar las frecuencias fuera del rango de estudio. Finalmente, se obtuvo la FFT de cada imagen y el resultado se convirtió a binario. Como resultado final se obtuvieron unas elipses, una por cada orientación, sobre las que se realizaron una serie de cálculos para poder cuantificar la orientación de las fibras de colágeno. En concreto, para cada orientación se obtuvo un valor (N_{wn}) en función del eje menor y mayor de la elipse correspondiente (Ecuación 1). Por último, para generar un índice de orientación de colágeno, se calculó el ratio entre el valor máximo y el mínimo de N_{wn} (Ecuación 2). Este índice de orientación indica como es la organización de las fibras de colágeno, de forma que un valor cercano a 1 indica una orientación de las fibras parecida en las distintas orientaciones estudiadas, lo que se traduce en una mayor desorganización. Por otro lado, cuanto más diferente a 1 sea el valor del índice, mayor será la organización de las fibras en una dirección concreta.

$$N_{wn} = 1 - \frac{\text{short axis}}{\text{long axis}} \quad (1)$$

$$N(\text{Orientation Index}) = \frac{\text{Max } N_{wn}}{\text{Min } N_{wn}} \quad (2)$$

2.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software GraphPad Prism (v.5.01). Las distribuciones normales se evaluaron con la prueba de normalidad D'Agostino y Pearson. Si las muestras seguían una distribución normal, se utilizó la prueba del t-test no paramétrico, de lo contrario, se usó la prueba de Mann Whitney. La cantidad de replicas biológicas (N) y de replicas técnicas (n) están representadas e indicadas en

cada experimento. En todos los gráficos, la línea está en la media y la significancia estadística se considera cuando el valor de $p < 0,05$.

3. Resultados y discusión

A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros de piel estudiados.

3.1. Grosor de las diferentes capas de la piel

En cuanto al grosor de las diferentes capas de la piel, se observó que el proceso de envejecimiento está relacionado con una disminución del grosor tanto de la epidermis como de la dermis en el caso de los ratones WT pero también en los transgénicos. Este resultado era totalmente esperable ya que como sabemos, la piel tiende a perder consistencia y a deteriorarse con la edad. Sin embargo, en cuanto al genotipo, no pareció que la reducción de los niveles de expresión de Sox2 afectara de forma significativa al grosor de la epidermis y dermis (Figura 2 A y B).

Por otra parte, el grosor de la capa de tejido adiposo dérmico también disminuyó considerablemente con la edad en los ratones WT. Esto se debe a que con la edad los depósitos de grasa dérmica tienden a disminuir, mientras que se incrementa la tendencia de acumular grasa subcutánea, es decir, de forma más interna. En contraste, en el caso de los ratones transgénicos viejos, el grosor de la capa de grasa dérmica aumentó notablemente. Este fenómeno podría estar, por tanto, relacionado con la reducción de los niveles de expresión de Sox2 (Figura 2 C).

3.2. Número de folículos pilosos

En el caso de los folículos, el resultado del análisis estadístico fue más o menos el esperado. La pérdida de cabello está relacionada de forma directa con el envejecimiento de la piel. Como consecuencia, tanto en los animales WT como en los transgénicos, se produjo una pérdida significativa de folículos con la edad. Además, también se observó una diferencia significativa entre los ratones jóvenes debido al genotipo, siendo el número de folículos considerablemente mayor en los WT. Esto puede ser así debido a que la expresión de Sox2 podría estar relacionada con la formación de los folículos pilosos. Sin embargo, esta diferencia de genotipo desaparece en los animales viejos (Figura 2 D).

3.3. Celularidad dérmica

Como conjunto, las células dérmicas son de gran importancia ya que proporcionan soporte a la piel formando lo que se conoce como la matriz extracelular. Con la edad, la piel va perdiendo su estructura y el número de células dérmicas disminuye. Esta disminución se puede observar en la gráfica de la Figura 2 E, donde tanto en los WT como en los transgénicos, se redujo el número de núcleos dérmicos (celularidad) como consecuencia del envejecimiento de la piel. Por lo tanto, vemos que el envejecimiento provoca una pérdida de celularidad y como consecuencia, una pérdida de estructura en la piel.

Por otro lado, también se obtuvo un resultado significativo al comparar ambos genotipos, siendo el número de núcleos menor en los ratones transgénicos Sox2/GFP. Es decir, la insuficiencia en la expresión de Sox2 en la piel joven y vieja afecta a la homeostasis tisular reduciendo la celularidad dérmica (Figura 2 E).

3.4. Contenido de colágeno y orientación de las fibras

Por último, se estudiaron el contenido y la orientación de las fibras de colágeno. En cuanto al contenido de colágeno, se produjo una disminución significativa tanto en los ratones WT como en los transgénicos causada por el envejecimiento de la piel. Sin embargo, no se apreciaron diferencias entre ambos genotipos en este sentido (Figura 2 F).

Al estudiar la orientación de las fibras de colágeno, gracias al algoritmo diseñado anteriormente, se vio que durante el envejecimiento de la piel, tanto en los WT como en los transgénicos, las fibras de colágeno van perdiendo su orientación y tienden a desorganizarse (el índice de orientación se acerca a 1). Además, también se pudo observar una diferencia significativa entre los genotipos, siendo la organización de las fibras más organizada (índice de orientación más diferente a 1) en los WT en comparación con los transgénicos (Figura 2 G). Esto indica, por lo tanto, que la expresión de Sox2 puede estar relacionada con el mantenimiento de las fibras de colágeno. Curiosamente, se ha descrito que la expresión de la proteína periostina, un componente de la matriz extracelular, esta notablemente disminuida en los depósitos de tejido adiposo envejecidos [9]. Esta proteína desempeña un papel importante en el ensamblaje apropiado y la homeostasis del colágeno. Además, aunque esta proteína no tiene efecto sobre la expresión de colágeno, la expresión reducida de periostina provoca un aumento en el diámetro de las fibrillas, lo que modifica la estructura del colágeno [10]. En resumen, la expresión de periostina disminuye significativamente durante el envejecimiento de la piel, lo que contribuye al fenotipo de la piel envejecida al afectar a la estructura del colágeno.

4. Conclusiones

Las conclusiones de este trabajo son:

1. El envejecimiento natural de la piel provoca una pérdida de grosor en la epidermis, dermis y el tejido adiposo (en los ratones WT). Además, también se ha visto que el envejecimiento está relacionado con la pérdida de folículos y con un decrecimiento en el número de núcleos dérmicos y el contenido y orientación de las fibras de colágeno, lo que afecta a la estructura de la matriz extracelular.
2. Se ha demostrado que los niveles de expresión reducidos de Sox2 en la piel envejecida afectan a la homeostasis tisular al inducir una celularidad dérmica reducida y, sorprendentemente, un aumento de la

deposición de grasa en el compartimento del tejido adiposo dérmico.

3. En la piel joven, también se observaron diferencias sustanciales entre ambos genotipos, siendo el número de folículos y núcleos dérmicos considerablemente menor en los transgénicos.
4. El genotipo marca una diferencia en la orientación y organización de las fibras de colágeno tanto en la piel joven como vieja, de forma que las fibras tienden a estar más desorganizadas en los ratones transgénicos, lo que afecta a la estructura de la piel
5. En relación con las conclusiones anteriores, el modelo haploinsuficiente Sox2/GFP, que presenta niveles de expresión reducidos de Sox2, está relacionado con el envejecimiento prematuro de los tejidos dependientes de células madre adultas Sox2+.

Referencias:

- [1] Lopez-Otin et al., “The hallmarks of aging”. *Cell* 153, 1194-1217 (2013).
- [2] Wiegand et al., “Skin aging: a brief summary of characteristic changes”. In *Textbook of aging skin*, pp.55-65 (2017).
- [3] Farage et al., “Degenerative changes in aging skin”. In *Textbook of aging skin*, pp. 15-30 (2017).
- [4] Agabalyan et al., “Hair follicle dermal stem cells and skin-derived precursor cells: Exciting tools for endogenous and exogenous therapies”. *Exp Dermatol* 26, 505-509 (2017).
- [5] Sarkar et al., “The sox family of transcription factors: versatile regulators of stem and progenitor cell fate”. *Cell Stem Cell* 12, 15-30 (2013).
- [6] Rahmani et al., “Hair follicle dermal stem cells regenerate the dermal sheath, repopulate the dermal papilla, and modulate hair type”. *Dev Cell* 31, 543-558 (2014)
- [7] Iribar et al., “Schwann Cells in the Ventral Dermis Do Not Derive from Myf5-Expressing Precursors”. *Stem Cell Reports* 9, 1477-1487 (2017).
- [8] Osman et al., “A novel method to assess collagen architecture in skin”. *BMC Bioinformatics*, 14:260 (2013).
- [9] Antonia Graja et al., “Loss of periostin occurs in aging adipose tissue of mice and its genetic ablation impairs adipose tissue lipid metabolism”. *Aging Cell*; e12810 (2018).
- [10] Egbert M et al., “The matricellular protein periostin contributes to proper collagen function and is downregulated during skin aging”. *J Dermatol Sci* (2013).

Figuras

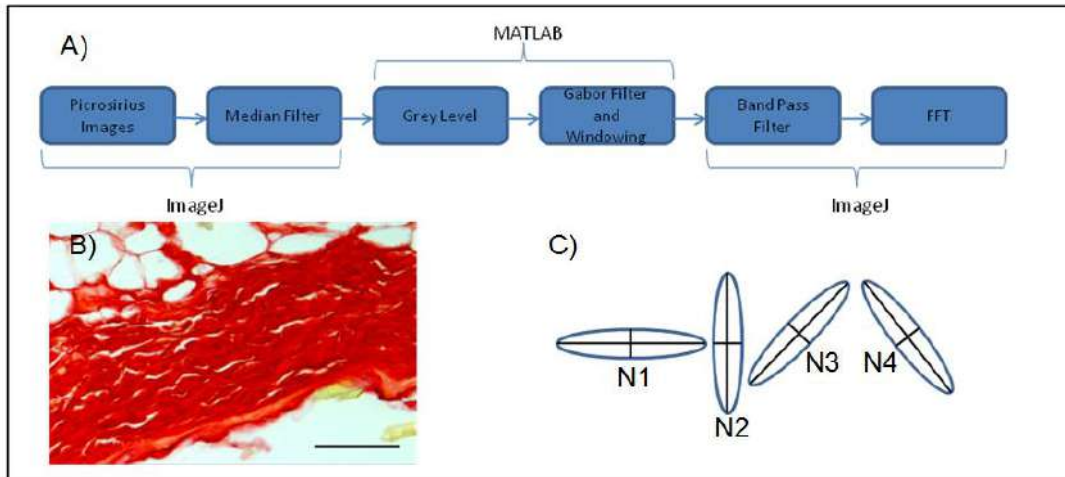


Figura 1. Cuantificación de la orientación de las fibras de colágeno. A) Diagrama de flujo representando las diferentes etapas del análisis. B) Imagen de la piel dorsal de ratón teñida con PicroSirius Red y vista al microscopio con un aumento de 40X (barra de escala= 50 μ m). C) Ilustración de las elipses generadas para generar el índice de orientación del colágeno.

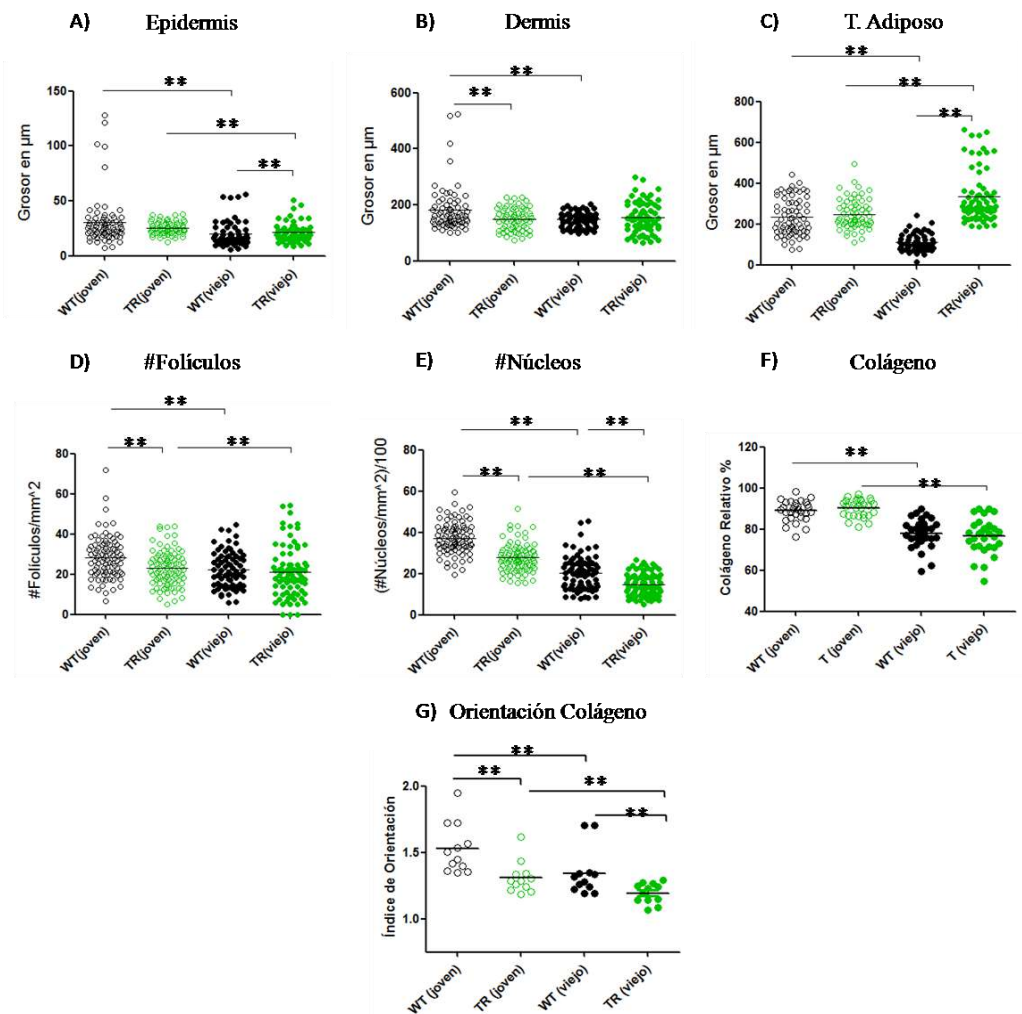


Figura 2. A) Grosor de la epidermis (N=3, n=24). B) Grosor de la dermis (N=3, n=24). C) Grosor del tejido adiposo (N=3, n=24). D) Representación del número de folículos (N=3, n=30). E) Representación del número de núcleos dérmicos (N=3, n=30). F) Representación del contenido relativo de colágeno (N=3, n=10). G) Orientación de las fibras de colágeno (N=3, n=4).

Diseño, fabricación y validación de plataformas microfluídicas de difusión con membranas poliméricas integradas para el testeo de tratamientos basados en nanovehículos

C. Olaizola Rodrigo¹, O. Mitxelena Iribarren^{1,2}

¹ Tecnun, Universidad de Navarra (UNAV), Donostia, a904108@alumni.unav.es

² CEIT, Universidad de Navarra, Donostia, omitxelena@ceit.es

Resumen

Debido al efecto dañino de la quimioterapia, se idean tratamientos alternativos contra el cáncer, y uno de ellos es el uso de nanopartículas lipídicas cargadas con medicamento. Hoy en día, se realizan experimentos de difusión y permeabilidad mediante el uso de membranas 3D de flujo dinámico que simulan epitelio intestinal. En este trabajo, se presenta un dispositivo microfluídico para llevar a cabo experimentos de difusión en un entorno micrométrico donde se quiere estudiar la absorción en el intestino de medicamentos que se tomen por vía oral. Para ello, se fabrican unas plataformas de difusión con membranas poliméricas contenidas en su interior que simulan el intestino, lo que aporta un estudio de difusión de las nanopartículas a través de éstas. Así, se obtiene una plataforma de difusión competente para futuros estudios *in vitro* del efecto de medicamentos sobre células en un ambiente dinámico.

1. Introducción

Hoy en día, el tratamiento más habitual contra el cáncer es la quimioterapia con o sin cirugía previa. Uno de los inconvenientes de este tratamiento es que debido a los fármacos tan fuertes que se utilizan, muchas células sanas también son destruidas. Por lo tanto, se investigan métodos alternativos para tratar el cáncer, procedimientos que estén focalizados únicamente en la destrucción de células cancerosas evitando el aniquilamiento de células normales. Dentro de las opciones de terapia dirigida que procura proporcionar otros posibles tratamientos, está la nanomedicina. La nanomedicina está enfocada en gran medida en el diseño de nanosistemas de liberación de fármacos [1].

Se han realizado estudios anteriores donde se observaba que las nanopartículas utilizadas como vehículos para transportar el fármaco a la zona dañada ejercían efecto sobre las células [2]. Durante estos estudios surgió un problema: al utilizar dispositivos estáticos en los ensayos, las células morían por asfixia de las nanopartículas que sedimentaban en el fondo del sistema del experimento debido al estancamiento del flujo. Por eso se propuso un sistema dinámico [3]. Se ha aprovechado este diseño y se han fabricado varias plataformas de difusión que contienen en su interior una membrana de policaprolactona (PCL) que simula tejido endotelial, y, para verificar el correcto funcionamiento del dispositivo, se han realizado unos ensayos de difusión con medicamento libre y encapsulado en nanopartículas. Se ha realizado un ensayo de viabilidad celular con células intestinales Caco-2 y cada una de las membranas poliméricas fabricadas para estudiar su

competencia en un entorno *in vivo*. La finalidad de los estudios de difusión es observar si las nanopartículas lipídicas cargadas con medicamento serían tan efectivas tras atravesar tejidos del cuerpo y es por ello que se hacen ensayos tanto de difusión de los tratamientos como de permeabilidad de las membranas. Se han diseñado dos plataformas de difusión diferentes en cuanto a geometría, y para cada geometría se han utilizado cinco tipos de membranas de PCL diferentes.

De esta manera, se define el objetivo de este trabajo, que consiste en, a partir de los resultados obtenidos, elegir una plataforma de difusión de entre todas las fabricadas cuyas características sean las idóneas para poder recrear *in vitro* el comportamiento de células cancerígenas al ser tratadas con diferentes medicamentos. Para ello, se han hecho procesos de fabricación y ensayos experimentales con los elementos fabricados.

2. Materiales y métodos

2.1. Fabricación de las cámaras microfluídicas

Las cámaras microfluídicas consisten en una réplica en polidimetilsiloxano (PDMS) de un molde creado a través de la técnica de fotolitografía. En este trabajo, se han fabricado tres tipos de cámaras microfluídicas ya que el diseño de la plataforma de difusión *estrella* consta de dos cámaras iguales (Figura 1 a) y el *tubular* de dos diferentes (Figura 1 b y c).



Figura 1. a) Chip de la máscara diseño estrella. b) Chip de la máscara tubular superior. c) Chip de la máscara tubular inferior.

Primero, se han fabricado los moldes mediante fotolitografía de una capa empleando resina SU8-100. Finalmente, tras fabricar los tres moldes necesarios, se ha procedido a la réplica en PDMS de ellos mediante el método de *casting*. Tanto los moldes como el PDMS replicado han sido caracterizados mediante el perfilómetro KLA-Tencor.

2.2. Fabricación de las membranas poliméricas

Se ha utilizado la técnica de *electrospinning* para fabricar las membranas de nanofibras insertadas en los dispositivos finales. Se han creado cinco membranas de diferente

estructura (con cinco colectores diferentes) pero un mismo polímero: PCL. Se han hecho variaciones de: concentración, uso de glicerol y dos medios de incubación diferentes (DMEM y RPMI). Para la caracterización de las membranas de nanofibras, se han utilizado el microscopio óptico Nikon Eclipse TS100, con cámara fotográfica Nikon D90, y el microscopio electrónico de barrido (Scanning electron microscopy, SEM) Phenom PRO de Phenom World.

2.3. Fabricación de las plataformas de difusión

Una vez fabricadas las cámaras microfluídicas y las fibras, se ha procedido a la elaboración de las plataformas de difusión mediante la técnica de activación de superficies por plasma de oxígeno. En este proceso se ha pegado cada pareja de chips de PDMS junto con su respectiva membrana, por lo que resultan cinco plataformas diferentes por cada diseño (*estrella* o *tubular*), un total de diez plataformas de difusión distintas. La caracterización de las plataformas de difusión consiste en una comprobación de fugas mediante una bomba peristáltica y tintas de colores. En la Figura 2 se visualizan los esquemas seguidos.

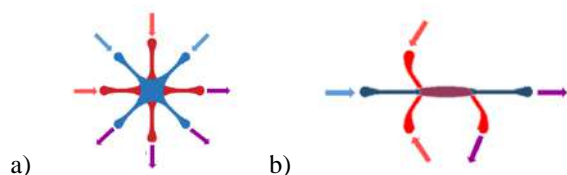


Figura 2. Esquema comprobación de fugas. a) Diseño estrella, donde las flechas azules y rojas son los inlets de arriba y abajo respectivamente y las moradas los outlets. b) Diseño tubular, donde las flechas rojas son los inlets de arriba, la azul de abajo y las moradas los outlets.

2.4. Ensayo de viabilidad celular

Antes de comenzar con los estudios de difusión, se ha realizado un ensayo de viabilidad celular por reducción del compuesto MTT donde se ha utilizado la línea celular Caco-2. Se han realizado con membranas tanto con glicerol, como sin glicerol para observar el efecto de éste en las células y poder decidir qué membranas son más efectivas.

2.5. Estudios de difusión

Se ha utilizado metotrexato libre como referencia en este experimento para observar la diferencia con el metotrexato encapsulado. El metotrexato ha sido encapsulado en nanopartículas lipídicas, proporcionadas desde la facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra, que cuenta con la patente de fabricación de las mismas [2]. Por lo que finalmente resultan cuatro tipos de nanopartículas: LEC-PVA y LEC-Tween, y para cada una de ellas se han creado dos variedades, cargadas de metotrexato (MTX) y blancas. Se ha utilizado una bomba peristáltica de doce tubos para estos ensayos de difusión (Figura 3). En primer lugar, se hacen varias pruebas para determinar tres parámetros imprescindibles del experimento: la longitud de onda, los tiempos de difusión y la concentración inicial. Tras haber realizado barridos de espectro con el espectrofotómetro para cada uno de los tratamientos, los resultados más concluyentes se obtienen de los valores medidos a una

longitud de onda de 370 nanómetros. En cuanto al tiempo de difusión y la concentración de fármaco, los valores ideales han resultado ser 5, 10, 15 y 20 minutos para 150 μ M.



Figura 3. Bomba peristáltica durante el ensayo de difusión.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización de los moldes y PDMS

Los resultados obtenidos tras la caracterización tanto de los moldes como de las réplicas en PDMS (Figura 4), muestran la media de la altura en micrómetros de los canales para los tres tipos de geometría utilizados. Estos resultados demuestran que la fabricación se ha realizado de manera eficaz ya que la medida prevista es 110 μ m para todos los canales. También se observa la reproducibilidad entre las tres geometrías utilizadas.

Diseño	Molde	PDMS
Estrella	108,12 \pm 0,54	109,03 \pm 1,11
Tubular superior	107,53 \pm 0,83	107,50 \pm 3,02
Tubular inferior	109,49 \pm 0,43	106,99 \pm 6,08

Tabla 1. Caracterización de moldes y PDMS.

3.2. Caracterización y análisis estadístico de las membranas poliméricas

En cuanto a las membranas poliméricas, se analiza el efecto de cuatro factores diferentes sobre el tamaño de las fibras. Primero, se ha estudiado el efecto del glicerol para ver si existe una diferencia en el tamaño de fibras dependiendo de éste: los resultados demuestran que el hecho de añadir glicerol a la membrana no afecta al tamaño de las fibras siguiendo.

En segundo lugar, se estudia el efecto sobre el grosor de las nanofibras de la incubación de las mismas en distintos medios. Los medios de incubación utilizados han sido RPMI y DMEM y el tiempo de incubación ha sido 72 horas. Para las membranas de concentración 20% de PCL se obtienen resultados muy significativos, pero sin ningún patrón ya que para algunos colectores las fibras aumentan tras la incubación y para otros, disminuyen. En cambio, tras la incubación, todas las membranas de concentración 10% el grosor de las fibras disminuye (Figura 4), lo que puede interpretarse como una degradación de la membrana.

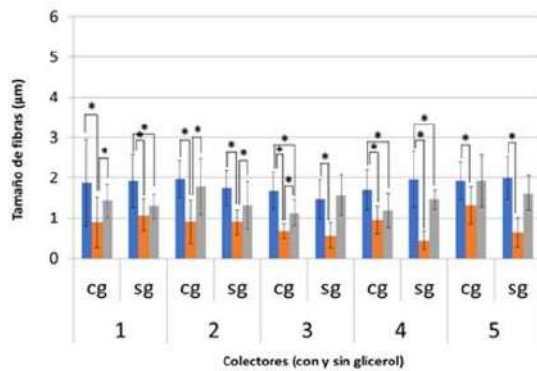


Figura 4. Efecto de la incubación sobre los colectores PCL (10w.t.%). En azul sin incubar, naranja en DMEM y gris en RPMI.

También se ha estudiado el efecto de la concentración de PCL. El análisis se ha realizado para disoluciones de PCL 10w.t.% y PCL 20w.t.%. Los resultados muestran que el uso de una disolución con distintas concentraciones afecta al tamaño de las nanofibras significativamente, siendo las fibras mayores en el caso de la disolución de PCL 10w.t.%. Dado que hubo problemas en el proceso de *electrospinning* con las membranas de 20% debido a la obstrucción de la punta por el volumen de concentración, estas membranas fueron descartadas.

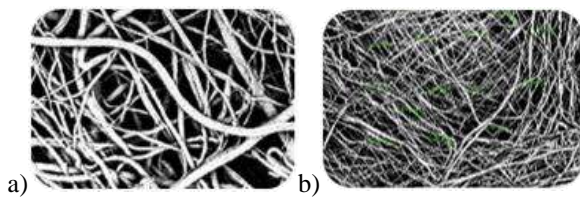


Figura 5. Imágenes de las nanofibras fabricadas obtenidas mediante el SEM a) de la membrana 2 sin glicerol, sin incubar y de disolución 20w.t.%. b) de la membrana 3 sin glicerol, sin incubar y de disolución 10w.t.%.

Por último, se ha analizado el efecto que tiene en el tamaño de fibra el hecho de usar diferentes colectores. Los resultados indican que los colectores utilizados para la fabricación de membranas afectan significativamente al tamaño de las nanofibras.

3.3. Ensayo de viabilidad

En este ensayo se ha observado la evolución temporal de un cultivo de células Caco-2 en las membranas, analizando la viabilidad celular tras 24, 48 y 72 horas. Se ha estudiado el efecto del glicerol y del colector sobre dicha viabilidad. Gracias a los resultados obtenidos con el ensayo de viabilidad celular, se han descartado las membranas con glicerol debido al efecto nocivo que ejerce este compuesto sobre las células (Figura 5).

Tras descartar las membranas con glicerol, se hace un análisis estadístico de los diferentes colectores sin glicerol. Pero los resultados no muestran ningún dato significativo,

por lo que no se hace ninguna elección de entre todas las membranas sin glicerol durante este ensayo.

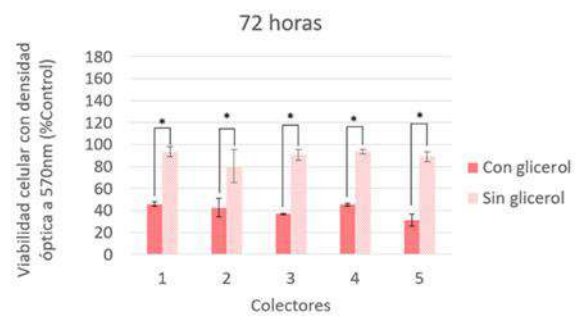


Figura 6. Viabilidad celular a las 72 horas.

3.4. Rendimiento del proceso de fabricación de las plataformas de difusión

Debido a los resultados anteriores, las membranas que se han utilizado para la fabricación de las plataformas de difusión son las de disolución de PCL 10 w.t.% sin glicerol. Se ha observado que el proceso de fabricación tiene un alto rendimiento ya que el 82 % de las plataformas fabricadas han sido válidas. La fabricación de las plataformas *tubulares* tiene mayor rendimiento que las *estrella* (un 86% frente a un 76%). También se ha realizado un cálculo del rendimiento de fabricación dependiendo de cada tipo de membrana. Se ha concluido que, desde el punto de vista de la fabricación de las plataformas de difusión, la membrana más adecuada es la 3, ya que su rendimiento es alto en ambos diseños, es fácil de cortar y resiste a los flujos en movimiento de manera satisfactoria, pero de momento no se descarta ninguna.

3.5. Difusión de los tratamientos

Primero se ha estudiado la difusión de los medicamentos en las diferentes membranas. Tras analizar estadísticamente todos los resultados obtenidos, se observa que los tratamientos que más concentración transportan a través de las membranas a lo largo del tiempo son las dos clases de nanopartículas, LEC-PVA y LEC-Tween, cargadas de metotrexato, como podemos observar, por ejemplo, en la Figura 6. El metotrexato libre va ascendiendo en cantidades de concentración mínimas a lo largo del tiempo, pero le cuesta mucho más traspasar las membranas. En cuanto a las nanopartículas blancas, en ocasiones sí que se ve un aumento de concentraciones para las LEC-Tween, pero son casos concretos.

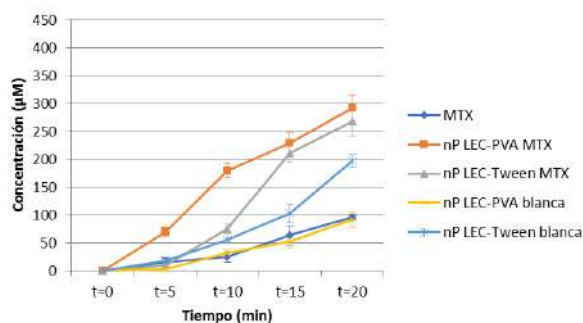


Figura 7. Evolución de la difusión de los medicamentos a lo largo del tiempo en la membrana 3 del diseño estrella.

Finalmente, se estudia la influencia de la geometría de la cámara microfluídica en la difusión de los medicamentos. Se analizan las diferencias entre las estructuras estrella y tubular para cada membrana y cada medicamento. Tras observar y analizar todos los resultados de este apartado, se concluye que no hay casi diferencia entre los diseños *estrella* y *tubular* respecto al estudio de difusión, únicamente algunos casos concretos, pudiéndose tratar de casos puntuales que pueden suceder o no. Por eso, a la hora de elegir una estructura de las dos testeadas, las razones sean las siguientes: las dimensiones del área de difusión y efectividad (facilidad) a la hora de su fabricación. El diseño tubular tiene una menor área de difusión, por lo que se utilizarán menos reactivos en los ensayos y este caso favorece a estudios futuros.

3.6. Permeabilidad de las membranas

En este apartado, se analiza la permeabilidad de las cinco membranas utilizadas en este estudio de difusión con los cinco medicamentos diferentes. Tras el estudio, los valores de permeabilidad obtenidos son muy acertados para la difusión de fármacos en membranas de nanofibras poliméricas. Las membranas 2, 3, 4 y 5 son las que han resultado más similares a los valores obtenidos en estudios de permeabilidad de fármacos [4]. Las membranas 2 y 5 tienen cierto parecido debido al colector utilizado para su fabricación: un colector liso sin muescas. Los colectores 3 y 4, en cambio, hacen que las membranas tengan zonas más gruesas y más finas intercaladas, es decir, un cambio de grosor continuo. Debido a que tras este estudio de permeabilidad no se puede hacer una elección concreta de tipo de membrana, se tiende a elegir esta por el proceso de fabricación. En este caso, las membranas 2 y 5 se plegaban continuamente durante el proceso de fabricación y esto creaba arrugas al poner los trozos de membranas en las plataformas. Esto ralentizaba el proceso y hacía desechar plataformas, razón por la que se excluyen dichas membranas para el dispositivo final.

4. Conclusiones

Varias son las conclusiones que se pueden extraer a partir de estos resultados. La primera es que la fabricación de las plataformas de difusión ha sido muy efectiva con un

número mínimo de plataformas defectuosas (el 18%). En segundo lugar, que la plataforma de geometría *tubular* es más eficaz y eficiente debido a una menor área de difusión que el diseño *estrella*, ya que así se utilizarán menos reactivos en los ensayos. También, que las nanopartículas resultan el modo de transporte del medicamento más eficaz en estos dispositivos fabricados con estas membranas concretas. Se han obtenido resultados que demuestran claramente que la capacidad de difusión a través de membranas poliméricas es mucho mayor para las nanopartículas cargadas que para el medicamento libre. En cuanto a la permeabilidad de las membranas, todas ellas han obtenido valores parecidos para cada uno de los tratamientos menos la membrana 1, por lo que esta se descarta. También quedan descartadas las membranas 2,4 y 5 por la dificultad que crean a la hora de su fabricación. Finalmente, se elige la membrana 3 para el dispositivo final.

Referencias

- [1] Y. Rojas-Aguirre, K. Aguado-Castrejón, and I. González-Méndez, "La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer?," *Educ. Quim.*, vol. 27, no. 4, pp. 286–291, 2016.
- [2] Y. González-Fernández, M. Zalacain, E. Imbuluzqueta, L. Sierrasesumaga, A. Patiño-García, and M. J. Blanco-Prieto, "Lipid nanoparticles enhance the efficacy of chemotherapy in primary and metastatic human osteosarcoma cells," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 30, pp. 435–442, 2015.
- [3] O. Mitxelena-Iribarren, C. L. Hisey, M. Errazquin-Irigoyen, Y. González-Fernández, E. Imbuluzqueta, M. Mujika, M. J. Blanco-Prieto, and S. Arana, "Effectiveness of nanoencapsulated methotrexate against osteosarcoma cells: in vitro cytotoxicity under dynamic conditions," *Biomed. Microdevices*, vol. 19, no. 2, 2017.
- [4] E. Sjögren, J. Eriksson, C. Vedin, K. Breitholtz, and C. Hilgendorf, "Excised segments of rat small intestine in Ussing chamber studies: A comparison of native and stripped tissue viability and permeability to drugs," *Int. J. Pharm.*, vol. 505, no. 1–2, pp. 361–368, 2016.

Sistema de predicción del éxito de la inducción farmacológica basado en electrohisterografía

A. de Felipe Machancoses¹, C. Benalcazar-Parra¹, Y. Ye-Lin¹, J. Alberola-Rubio², A. Perales Marin², J. Garcia-Casado¹, G. Prats-Boluda¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, alexdefelipe@gmail.com, {carbepar, yiye, jgarciac, gprats}@ci2b.upv.es

² Servicio de obstetricia, Hospital Universitari i Politècnic La Fe de València, Valencia, España

Resumen

La inducción del parto es una práctica habitual en obstetricia para desencadenar el trabajo de parto en determinadas situaciones de riesgo. Sin embargo, en ocasiones fracasa y debe realizarse una cesárea, con los consiguientes riesgos para la salud materno-fetal y el impacto económico que ello supone. Estudios previos han mostrado diferentes patrones de respuesta en el electrohisterograma (EHG) para las inducciones que terminan en éxito (alcanza periodo activo de parto) frente a las fallidas. Este también ha demostrado ser uno de los marcadores biofísicos prometedores de la dinámica uterina y del estado electrofisiológico del útero. Por tanto, el objetivo de este trabajo es el diseño y desarrollo de un sistema que permita predecir de forma temprana el éxito de inducción en base a los registros de EHG y datos obstétricos para ayudar a los obstetras a tomar mejores decisiones en cuanto a la gestión del parto. Para ello, se realizaron 94 registros de EHG de los 30 minutos previos a la inducción y 4h posteriores y se calcularon 23 características sobre 5 tramos de 30 minutos. Se ha desarrollado un sistema de predicción del éxito de inducción que consiste en la técnica de sobremuestreo ADASYN para el balanceo de grupos, PSO para la selección de características y redes neuronales como método de clasificación. Finalmente, el clasificador diseñado predice el éxito de inducción con un 87% de acierto.

1. Introducción

La inducción del parto es una práctica habitual en obstetricia: en la Comunidad Valenciana la tasa de inducción del parto en hospitales públicos y privados fue del 27.4% y del 41.7% respectivamente [1], siendo un 10% el máximo recomendado por la OMS. Esto no solo implica un impacto en la salud materna y neonatal, sino también un grave impacto económico, imputándosele un coste de más de 2 billones de dólares en EE. UU [2].

La inducción del parto consiste en provocar el trabajo de parto de manera artificial mediante la maduración cervical y estimulación de las contracciones. La forma más habitual de realizarla es mediante fármacos, y únicamente está indicado en aquellas situaciones en las que finalizar la gestación aporta más beneficios para la salud materno-fetal que los que aporta la continuación del embarazo.

Se considera que la inducción del parto ha sido exitosa desde el punto de vista farmacológico si el fármaco provoca que la mujer alcance el periodo activo de parto (la fase del parto en la que las contracciones son más fuertes, intensas y duraderas y en la que el cérvix ha alcanzado al menos una dilatación de 3 cm) y se considera que ha

fracaso si no lo alcanza [5]. La inducción en ningún caso asegura que vaya a ser exitosa, por lo que en muchas ocasiones acaba siendo necesario la realización de una cesárea con los consiguientes riesgos para la salud materno-fetal y el impacto económico que ello supone. Es por esto por lo que la predicción temprana del éxito de inducción es clave en la mejora del bienestar materno-fetal y en la reducción del coste sanitario. Estudios previos han demostrado que las condiciones cervicales antes de la administración del fármaco y las características tanto de la madre como del feto son factores que influyen sobre el éxito de inducción [5], pero ningún método ha demostrado ser fiable. Por ejemplo, el índice de Bishop es el método basado en las condiciones cervicales más usado para predecir el éxito de inducción, pero resulta ser subjetivo y de poca reproducibilidad.

Muchos estudios han demostrado que la monitorización de las contracciones uterinas puede ser fundamental para predecir el éxito de inducción [7]. La medida de la presión intrauterina es el método más preciso, sin embargo es una técnica invasiva que requiere de rotura de membranas [8]. La colocación de un tocodinamómetro (TOCO) sobre la superficie del abdomen es el método no invasivo más empleado en la obstetricia, pero es impreciso [8]. Este método tampoco permite distinguir las contracciones efectivas de las no efectivas, y depende en gran medida de la subjetividad del examinador.

Una alternativa a esta técnica es la electrohisterografía (EHG), que ha demostrado ser una técnica fiable para la caracterización no invasiva de las contracciones y también del estado electrofisiológico del útero [8]. El EHG, que consiste en el registro de la actividad eléctrica del útero sobre la superficie del abdomen, ha sido usado para diferenciar entre parto a término y pretérmino o para distinguir entre contracciones efectivas y no efectivas, pero pocos estudios se han centrado en la respuesta de la actividad eléctrica uterina frente a fármacos de inducción del parto. Benalcázar *et al.* lo hicieron, y encontraron diferentes patrones de respuesta en las características del EHG para las inducciones que terminan en éxito (alcanza periodo activo de parto) frente a las fallidas [7]. Por tanto, el objetivo de este trabajo es el de desarrollar un sistema de predicción del éxito de la inducción en base a la caracterización de señales de EHG registradas durante las primeras 4h desde la inducción del parto y de datos obstétricos habituales.

2. Materiales y métodos

2.1. Base de datos

Este trabajo se ha realizado en 94 mujeres con gestación simple (40-42 semanas) con indicación médica de maduración / inducción en la unidad de paritorios del Área de Salud del Servicio de Ginecología y Obstetricia del HUP la Fe. El protocolo de registro se adhirió a la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de ética del hospital. Se informó a las mujeres sobre la naturaleza del estudio y se proporcionó consentimiento informado por escrito. La inducción del parto se llevó a cabo por medio de los agentes de inducción farmacológica Misoprostol (PGE1) o Dinoprostona (PGE2). Los datos obstétricos recogidos fueron los tabulados en la Tabla 1, donde también se puede ver el número de registros perteneciente a cada clase.

Para cada sesión de registro se adquirió simultáneamente el registro de TOCO y las señales de EHG. Los detalles sobre el protocolo de registro y procesamiento de las señales pueden encontrarse en un estudio anterior [7]. En la Figura 1 se muestra la disposición de estos electrodos.



Figura 1. Disposición de los electrodos para obtener los registros monopolares.

Tras el registro y procesamiento de las señales se obtiene una señal bipolar de cuatro horas y media de duración: la primera media hora es previa a la administración del fármaco para captar la actividad basal, y las cuatro horas restantes de registro son posteriores a la administración del fármaco.

De esta señal se segmentan manualmente los EHG-burst siguiendo los mismos criterios que en estudios previos [3]. La Figura 2 corresponde a un registro simultáneo de TOCO y de EHG con las contracciones identificadas resaltadas.

Parámetros obstétricos	PAP (N=80)	No PAP (N=14)
Edad materna	32.16 ± 4.68	35.14 ± 5.57
BMI (kg/m ²)	28.95 ± 3.79	28.59 ± 4.00
Gestaciones	1.46 ± 0.69	1.14 ± 0.36
Paridad	0.10 ± 0.34	0.07 ± 0.27
Abortos	0.25 ± 0.49	0.07 ± 0.27
Bishop	1.95 ± 1.11	1.79 ± 1.67
Peso feto (g)	3425.31 ± 374.65	3364.29 ± 404.24

Tabla 1. Media y desviación típica de los parámetros obstétricos calculados sobre de las mujeres inducidas

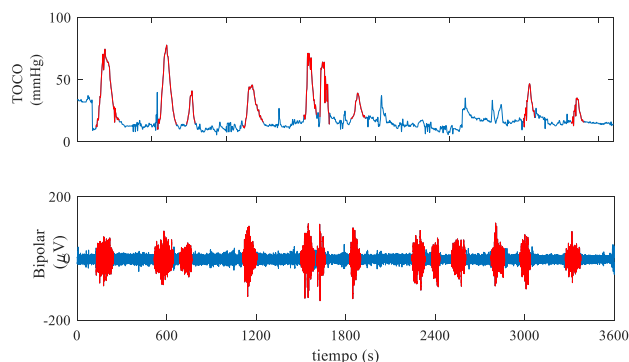


Figura 2. Registro simultáneo de TOCO y EHG con las contracciones segmentadas marcadas en rojo.

2.2. Parametrización de las señales de EHG

Para cada EHG-burst segmentado se ha computado un total de 23 características, temporales (amplitud pico a pico), espectrales y no lineales. Se ha computado la amplitud pico a pico que mostró una tendencia creciente conforme progresa el embarazo. Estudios previos han observado un desplazamiento del contenido espectral del EHG hacia altas frecuencias conforme se acerca el parto. En total se han computado 13 características espectrales extraídas de la densidad espectral de potencia estimada mediante el método del periodograma de Welch con una ventana de 60 segundos y un solape del 50%: la frecuencia media, la frecuencia dominante en el rango 0.2 y 1 Hz, la frecuencia dominante en el rango 0.34 y 1 Hz, H/L ratio [7] y los deciles de la densidad espectral de potencia. Por último, también se han calculado 8 características no lineales ya que se ha demostrado en la literatura que el EHG se vuelve cada vez menos complejo y más predecible conforme se acerca el parto [7]: la entropía muestral, la entropía espectral, la entropía difusa, complejidad Lempel-Ziv binaria y los características de Poincaré SD1, SD2, SDRR y SD1/SD2.

Una vez obtenidos los características de los EHG-burst, se calcula el valor mediana de los mismos en bloques de 30 minutos. De esta forma, se obtiene 9 valores representativos de cada parámetro característico descrito anteriormente correspondiente a los tramos: 0', 30', 60', 90', 120', 150', 180', 210', 240'.

2.3. Diseño del sistema predictor del éxito de inducción

Dado el importante desbalanceo de la base de datos en cuanto al número de registros entre el grupo éxito y fracaso de inducción, se ha utilizado la técnica de sobremuestreo ADASYN [9], que consiste en generar datos sintéticos para la clase minoritaria para mejorar el rendimiento del sistema predictor. Por otra parte, de cada registro se dispone de 7 parámetros obstétricos y 207 características de EHG (23x9). Para la reducción de la dimensionalidad y determinación de las características de entrada al clasificador se ha empleado el algoritmo *Particle Swarm Optimization* (PSO) [10]. Subsiguientemente, se han ensayado distintas topologías con el fin de determinar la topología óptima de la red neuronal, de manera que todas tuviesen como máximo dos capas ocultas, siendo el



Figura 3. Esquema del procedimiento para el diseño del clasificador.

número máximo de neuronas en cada capa oculta diez y el número de neuronas de la segunda capa oculta inferior al de primera capa. El procedimiento seguido para diseñar el clasificador se encuentra esquematizado en la Figura 3.

3. Resultados

En la Tabla 2. *Resultados de los clasificadores entrenados con solo los parámetros obstétricos (OBS), solo con los características extraídos del EHG (EHG) y con todos los características (Todos) tras introducir el grupo de entrenamiento (E), el de validación (V) y Figura 4 se muestran los resultados obtenidos por el clasificador con la topología que mejor AUC promedio ha obtenido en cada caso.*

Los valores de AUC (78%) y exactitud (78%) fueron más bajos cuando se utilizaron solo parámetros obstétricos. Por otra parte, estos fueron mucho mayores (del 86% y 85% respectivamente) cuando se utilizaron las características de EHG, y algo más elevado que con respecto a este último al utilizarse ambos grupos de parámetros juntos (AUC=87% y exactitud=86%). Además, se puede observar que los resultados de validación son similares a los de entrenamiento, lo cual demuestra la capacidad de generalización del sistema desarrollado a otros registros que no habrían sido utilizados para el diseño del sistema predictor.

		E	V	T
OBS	AUC	0.81	0.78	0.80
	Exactitud	0.77	0.78	0.76
EHG	AUC	0.92	0.86	0.91
	Exactitud	0.91	0.85	0.89
Todos	AUC	0.94	0.87	0.93
	Exactitud	0.91	0.86	0.89

Tabla 2. *Resultados de los clasificadores entrenados con solo los parámetros obstétricos (OBS), solo con los características extraídos del EHG (EHG) y con todas las características (Todos) tras introducir el grupo de entrenamiento (E), el de validación (V) y toda la base de datos (T).*

4. Discusión

Ser capaces de predecir el éxito de una inducción de parto permitiría reducir costes y mejorar el bienestar materno-fetal, ya que las cesáreas tras una inducción fallida prolongada suponen un mayor consumo de recursos en salud y también más complicaciones tanto para el feto como para la madre. Para su predicción se ha venido usando algunos parámetros obstétricos como el Índice de Bishop (AUC = 52%) [11], o la longitud y dilatación

cervical (AUC = 68.9% y 72% respectivamente) [12]. También se ha intentado predecirlo mediante métodos basados en ultrasonidos, obteniendo AUCs del 64% [13] y 76% [14]. Sin embargo, hasta la fecha no se ha obtenido un sistema fiable para la predicción del éxito de la inducción del parto.

Sievert et al [15] desarrolló un modelo de predicción para el éxito de la inducción del parto basado en parámetros obstétricos alcanzando un AUC del 77% en el cohorte de validación. Este resultado es coherente al conseguido en nuestro trabajo cuando solo se usan parámetros obstétricos (AUC=78% en conjunto de validación). No obstante, cabe mencionar que la forma de definir el éxito de la inducción del parto se diferencia a la mayoría de los estudios de la literatura. Aunque muchos autores definen el éxito de la inducción como parto vaginal, esta situación puede depender de otros factores ajenos a la madurez y la actividad del útero. Por ello, hemos decidido optar por considerar el éxito de la inducción del parto desde el punto de vista farmacológico, si la mujer alcanza el periodo activo del parto, lo cual es coherente también con las recomendaciones de Baños et al [4]

Adicionalmente, en este trabajo se ha desarrollado un sistema predictor utilizando parámetros extraídos del EHG. El sistema que utiliza solo parámetros EHG alcanzó un AUC de validación de 86%, el cual es superior a los conseguidos con el sistema que solo utiliza parámetros obstétricos y a los de la literatura [13 – 17]. Esta capacidad de discriminar entre el grupo de éxito y fracaso es también coherente a estudios previos que han demostrado que existe una diferente respuesta electrofisiológica entre ambos grupos partir de parámetros de EHG [3, 7, 8]. Por otra parte, cuando se utilizan tanto parámetros obstétricos como de EHG la capacidad predictora a penas mejora, consiguiendo un AUC de validación de 87%. Esto refleja que el EHG juega un papel más importante para la predicción del éxito de la inducción del parto. En estudios futuros se valorará la utilidad del EHG para la predicción del éxito de inducción desde el punto de vista clínico, es decir la predicción del parto vaginal. La principal limitación del estudio se debió a la base de datos desbalanceada de registros de éxito y fracaso. Esto causa un sesgo a favor de la clase mayoritaria, como se ha visto en [16]. Por ello se recurrió al uso de la técnica de sobremuestreo de datos (ADASYN) que añade datos sintéticos para aliviar el problema de desbalanceo de clases. La técnica se basa en la ubicación espacial de muestras de clases minoritarias en el espacio de

características. Este enfoque recopila información local de muestras de clases minoritarias para generar nuevas muestras sintéticas que también se supone que pertenecen a la clase minoritaria. Sin embargo, el sobremuestreo sintético basado en la ubicación espacial no es adecuado para conjuntos de datos que se superponen entre las clases minoritarias y mayoritarias. En este respecto se podría valorar otros métodos de clasificación que tienen en cuenta datos desbalanceados como por ejemplo *weighted extreme learning machine* [17]. Así mismo, se podría ensayar otras técnicas de selección de características y compararlas con los resultados obtenidos en este trabajo. Por último, se podría aumentar la base de datos para generar un conjunto de datos independiente al de entrenamiento con propósitos de verificar el modelo, ya que con el tamaño muestral actual esto no ha sido posible.

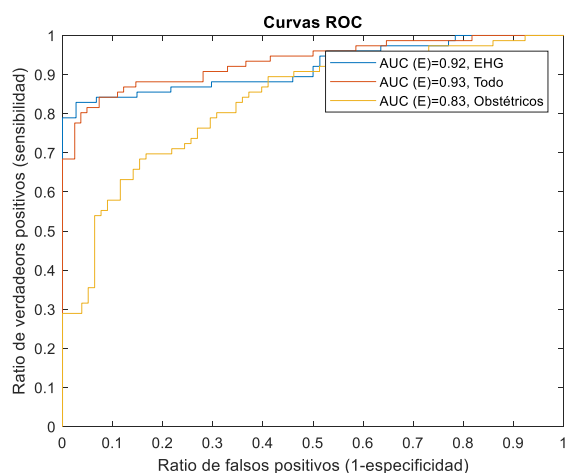


Figura 4. Curvas ROC de los clasificadores SP_OBS, SP_EHG y SP_EHG+OBS.

5. Conclusiones

El EHG contiene información relevante para la predicción temprana del éxito de inducción de parto desde el punto de vista farmacológico. El sistema de predicción del éxito de inducción desarrollado en base a los características derivados de los registros de EHG de las primeras 4 horas de inducción y los datos obstétricos, permite alcanzar una exactitud del 86% y AUC de 87% para el grupo de validación, por lo que podría ser susceptible de ser incorporado en un sistema de predicción del éxito de la inducción de parto de uso clínico para mejorar el bienestar materno-fetal y optimizar los recursos hospitalarios.

6. Bibliografía

- [1] Observatorio de Salud and Infantil y Perinatal, "SITUACIÓN DE LA SALUD INFANTIL Y PERINATAL EN LA COMUNIDAD VALENCIANA," 2010.
- [2] A. J. Kaimal *et al.*, "Cost-effectiveness of elective induction of labor at 41 weeks in nulliparous women," *YMOB*, vol. 204, p. 137.e1-137.e9, 2011.
- [3] C. Benalcazar-Parra *et al.*, "Comparison of labour induction with misoprostol and dinoprostone and characterization of uterine response based on electrohysterogram," *J. Matern. Neonatal Med.*, pp. 1–9, Dec. 2017.
- [4] N. Banõs, F. Migliorelli, E. Posadas, J. Ferreri, and M. Palacio, "Definition of Failed Induction of Labor and Its Predictive Factors: Two Unsolved Issues of an Everyday Clinical Situation," *Fetal Diagnosis and Therapy*, vol. 38, no. 3. Karger Publishers, pp. 161–169, 2015.
- [5] L. Pevzner, W. F. Rayburn, P. Rumney, and D. A. Wing, "Factors Predicting Successful Labor Induction With Dinoprostone and Misoprostol Vaginal Inserts," *Obstet. Gynecol.*, vol. 114, no. 2, Part 1, pp. 261–267, Aug. 2009.
- [6] T. Toth, *Gynaecologia et perinatologia: journal for gynaecology, perinatology, reproductive medicine, and ultrasonic diagnostics.*, vol. 14, no. 2. Mladost, 2005.
- [7] C. Benalcazar-Parra *et al.*, "Electrohysterographic characterization of the uterine myoelectrical response to labor induction drugs," *Medical Engineering and Physics*, vol. 56, pp. 27–35, Jun-2018.
- [8] J. Alberola-Rubio, G. Prats-Boluda, Y. Ye-Lin, J. Valero, A. Perales, and J. Garcia-Casado, "Comparison of non-invasive electrohysterographic recording techniques for monitoring uterine dynamics," *Med. Eng. Phys.*, vol. 35, pp. 1736–1743, 2013.
- [9] H. He, Y. Bai, E. A. Garcia, and S. Li, "ADASYN: Adaptive Synthetic Sampling Approach for Imbalanced Learning."
- [10] J. Kennedy and R. Eberhart, "Particle swarm optimization," in *Proceedings of ICNN'95 - International Conference on Neural Networks*, vol. 4, pp. 1942–1948.
- [11] L. Hou, Y. Zhu, X. Ma, J. Li, and W. Zhang, "Clinical parameters for prediction of successful labor induction after application of intravaginal dinoprostone in nulliparous Chinese women.," *Med. Sci. Monit.*, vol. 18, no. 8, pp. CR518-522, 2012.
- [12] P. da R. P. Pitarello, C. Tadashi Yoshizaki, R. Ruano, and M. Zugaib, "Prediction of successful labor induction using transvaginal sonographic cervical measurements," *J. Clin. Ultrasound*, vol. 41, no. 2, pp. 76–83, Feb. 2013.
- [13] P. Vankayalapati, F. Sethna, N. Roberts, N. Ngeh, B. Thilaganathan, and A. Bhide, "Ultrasound assessment of cervical length in prolonged pregnancy: prediction of spontaneous onset of labor and successful vaginal delivery," *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 31, no. 3, pp. 328–331, Mar. 2008.
- [14] A. Rao, E. Celik, S. Poggi, L. Poon, and K. H. Nicolaides, "Cervical length and maternal factors in expectantly managed prolonged pregnancy: prediction of onset of labor and mode of delivery," *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 32, no. 5, pp. 646–651, Oct. 2008.
- [15] R. A. Sievert, S. G. Kuper, V. C. Jauk, M. Parrish, J. R. Biggio, and L. M. Harper, "Predictors of vaginal delivery in medically indicated early preterm induction of labor," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 217, no. 3, p. 375.e1-375.e7, Sep. 2017.
- [16] P. Fergus, P. Cheung, A. Hussain, D. Al-Jumeily, C. Dobbins, and S. Iram, "Prediction of Preterm Deliveries from EHG Signals Using Machine Learning," *PLoS One*, vol. 8, no. 10, p. e77154, Oct. 2013.
- [17] W. Zong, G.-B. Huang, and Y. Chen, "Weighted extreme learning machine for imbalance learning," *Neurocomputing*, vol. 101, pp. 229–242, Feb. 2013.

Desarrollo de un modelo para ajustar los cambios observados en la mutación R420Q del canal RyR2

F. Escobar Ropero ¹, M.A. Arnau Vives ², E. Zorio Grima ², J. Saiz Rodríguez ¹, L. Romero Pérez ¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, València, España, {lromero, jsaiz}@ci2b.upv.es

² Servicio de Cardiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España, unidad.ms.cv@gmail.com

Resumen

Las arritmias cardiacas son la fisiopatología cardiaca más frecuente. Se producen por una alteración de la generación o conducción del impulso eléctrico en el tejido cardiaco. En los últimos años se ha estudiado el efecto que las mutaciones genéticas tienen sobre la generación y tratamiento de las arritmias. La taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (CPVT por sus siglas en inglés) es una arritmia potencialmente mortal causada por diferentes mutaciones.

En este trabajo se busca elaborar un modelo celular computacional que se ajuste a los cambios observados en pacientes portadores de la mutación R420Q, que afecta a los canales de liberación de calcio del retículo sarcoplasmático (RyR2). Tras realizar un estudio de sensibilidad del modelo de nodo sino-auricular de conejo desarrollado por Severi y colaboradores, hemos desarrollado una formulación de la mutación aumentando la apertura de los canales RyR2 y desplazando la compuerta de activación de la corriente de calcio. El modelo reproduce los cambios observados experimentalmente en las células del nodo sino-auricular, que se resumen en un aumento del periodo del potencial de membrana (BCL basic cycle length), un incremento del tiempo de pico de la concentración intracelular de calcio y una disminución del pico máximo de la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}).

1. Motivación.

En los últimos años, los avances tecnológicos, han permitido tener un mayor conocimiento sobre los genes y sus alteraciones. Gracias a ello surge el concepto de medicina personalizada, en la cual las estrategias de tratamiento se planifican atendiendo al genotipo, proteínas y ambiente del paciente.

Las mutaciones genéticas cardiacas suelen desencadenar problemas relacionados con la generación de arritmias potencialmente mortales. Conocer el genotipo, fenotipo y ser capaces de reproducir sus efectos es de gran importancia para el tratamiento de las mismas. En los últimos años, se han descubierto mutaciones en las proteínas que controlan la dinámica de calcio. Estas mutaciones contribuyen al desarrollo de arritmias como la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica (CPVT) y otras arritmias supraventriculares [1].

Los modelos computacionales son una herramienta que, recientemente, ha ganado mucha importancia. Estos modelos se modifican para intentar reproducir el comportamiento de las distintas mutaciones. De esta forma, es posible realizar modelos personalizados que se

adaptan a cada paciente y permitan estudiar el efecto de fármacos y tratamientos de forma particular [2][3].

El objetivo principal de este trabajo es ajustar un modelo computacional para que reproduzca los cambios experimentales observados en la mutación R420Q del canal de liberación de calcio del retículo sarcoplasmático (RyR2). Estos cambios fueron estudiados por Wang y colaboradores [4] y se resumen en: 17.5% de reducción del ritmo cardiaco, 41% de reducción en el pico máximo de la corriente de calcio tipo L y 17% de aumento del tiempo de pico de la concentración intracelular de calcio.

Para ello se ha utilizado el modelo elaborado por Severi y colaboradores [5] de célula del nodo sino-auricular de conejo. Esta mutación está implicada en el desarrollo de la CPVT, una arritmia genética potencialmente mortal [1].

2. Material y métodos.

2.1. Modelo del nodo sino-auricular

Para realizar las simulaciones se ha empleado el modelo desarrollado por Severi y colaboradores [3]. Se trata de un modelo de célula del nodo sino-auricular de conejo. Este modelo se ha utilizado porque contempla los dos relojes celulares: el de membrana, que se relaciona con las corrientes iónicas que atraviesan la misma, y el de calcio, que contempla la dinámica del retículo sarcoplasmático. Esto se traduce en un mayor detalle en la formulación de la dinámica de calcio, que resulta de interés para el estudio.

2.2. Modelo del canal RyR2.

El modelo seleccionado incorpora el modelo de Markov del canal RyR25 desarrollado por Stern y colaboradores [6] que se muestra en la figura 1.

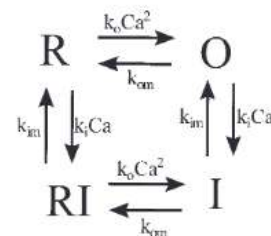


Figura 1: Esquema del modelo de Markov del canal RyR2.

Este modelo presenta cuatro estados: abierto (O), cerrado (R) y sus correspondientes formas inactivadas (I, RI respectivamente). Para regular la transición entre estos estados aparecen cuatro velocidades de transición:

velocidad de transición de los estados cerrados, tanto activos como inactivos, al estado abierto (K_0Ca^2), velocidad de transición del estado abierto, activo o inactivo, al cerrado (K_{om}), velocidad de transición de los estados activos a los inactivos (K_iCa) y de los estados inactivos a los activos (K_{im}).

2.3. Análisis de sensibilidad

Para estudiar los efectos de modificar las velocidades de transición del modelo de Markov del RyR2 sobre diferentes variables celulares, se ha realizado un análisis de sensibilidad siguiendo una versión de las ecuaciones utilizadas por Romero y colaboradores [7]:

$$D_{V,P,*10} = \frac{(V_{P,*10} - V_{control})}{V_{control}} \cdot 100$$

$$D_{V,P,/10} = \frac{(V_{P,/10} - V_{control})}{V_{control}} \cdot 100$$

$$S_{V,P} = \frac{\Delta D_{V,P}}{\Delta\%} = \frac{D_{V,P,*10} - D_{V,P,/10}}{\Delta\%}$$

Donde $D_{V,P,*10}$ es la variación normalizada al multiplicar por 10 la característica electrofisiológico V con respecto a control. $D_{V,P,/10}$ es la variación normalizada al dividir por 10 la característica V con respecto a control y $S_{V,P}$ es la sensibilidad, calculada como la diferencia de las variaciones normalizadas divididas por el incremento total en porcentaje.

2.4. Parámetros modificados

Dado que la mutación estudiada afecta al canal RyR2, se han modificado en total seis parámetros: las cuatro velocidades de transición del modelo de Markov del canal y los parámetros combinados $K_iCa_K_{om}$ y $K_0Ca_K_{im}$ resultantes de modificar a la vez las velocidades agonistas con respecto a la probabilidad de apertura.

2.5. Características electrofisiológicas

Se ha estudiado el efecto de los parámetros anteriores sobre las siguientes características electrofisiológicas: concentración de calcio en retículo sarcoplasmático de unión (Ca_{jsr}), concentración de calcio en la red del retículo sarcoplasmático (Ca_{nstr}), concentración de calcio del espacio subsarcoplásmico (Ca_{sub}), concentración intracelular de calcio (Ca_i), probabilidad de apertura del canal (O), pico máximo de la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}), pico máximo del potencial de membrana (V), tiempo de pico de la concentración intracelular de calcio (TTP) y periodo del potencial de membrana (BCL). Estas características suelen verse modificadas por la mutación del RyR2.

2.6. Protocolos de estimulación

Se realizaron simulaciones unicelulares de 1000 segundos, multiplicando y dividiendo por 3, 10, 30 y 100 cada uno de los parámetros del estudio por separado.

También se simuló la respuesta a un protocolo de *voltage clamp* (fijación del potencial) de la corriente de calcio tipo

L. En este protocolo se partió de un potencial de membrana de -60 mV en reposo y se aplicó un pulso a -10 mV. Estas simulaciones se realizaron para distintos desplazamientos en la compuerta de activación de la corriente.

3. Resultados.

En primer lugar, se consideró un modelo de célula del nodo sino-auricular de humano desarrollado por Fabri y colaboradores [8] basado en el de conejo de Severi y colaboradores [5]. Por la baja sensibilidad que presentaba el modelo se decidió continuar con el de conejo.

En la figura 2 se muestra la evolución temporal de las variables electrofisiológicas en las simulaciones unicelulares realizadas con el modelo de conejo.

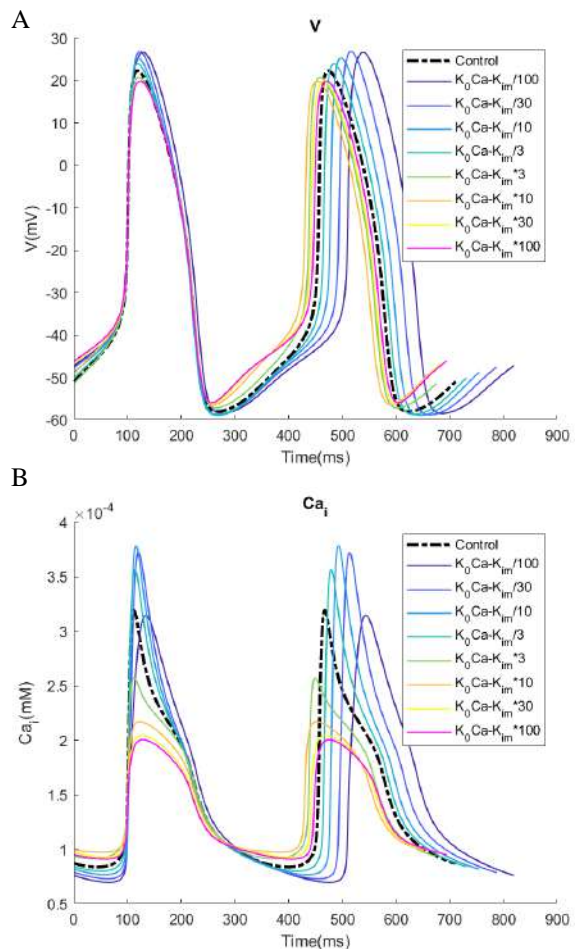


Figura 2: Evolución temporal de (A) el potencial de membrana (B) la concentración intracelular de calcio en los dos últimos pulsos de las simulaciones en las que se modifica el parámetro $K_0Ca_K_{im}$

En las gráficas anteriores se puede observar como al aumentar el parámetro $K_0Ca_K_{im}$ tienden a disminuir los picos máximos del potencial de acción y del calcio intracelular, y el BCL.

En la figura 3 se muestran los resultados del análisis de sensibilidad elaborado.

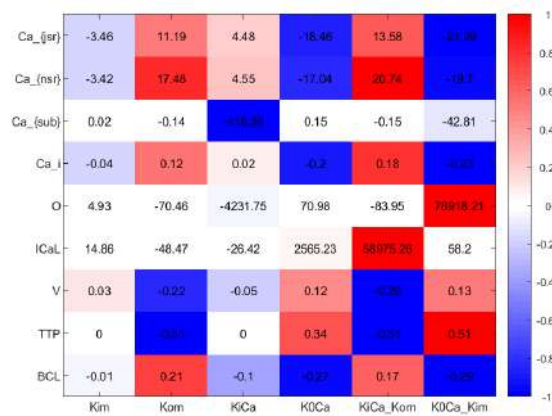


Figura 3: Tabla de sensibilidad de los parámetros y características electrofisiológicas considerados obtenida para el modelo de Severi y colaboradores. El color azul representa una sensibilidad negativa mientras que el rojo una positiva. El valor mostrado en cada celda refleja el valor de la sensibilidad.

En esta figura se observa que K_{om} y K_{oCa} son los parámetros individuales que mayor efecto tienen sobre las características electrofisiológicas consideradas. K_{om} presenta una sensibilidad positiva con respecto a las concentraciones de calcio y el BCL y negativa en el potencial de membrana y el tiempo de pico. Por el contrario, K_{oCa} muestra sensibilidad negativa en las concentraciones de calcio y el BCL y positiva frente al potencial de membrana y el tiempo de pico. Los parámetros combinados K_iCa_{Kom} y K_oCa_{Kim} mantienen las tendencias de K_{om} y K_{oCa} respectivamente, pero presentan una mayor sensibilidad.

Los resultados del estudio de sensibilidad se han utilizado para ajustar un modelo que reproduzca los cambios experimentales observados en la mutación R420Q del canal RyR2: 17.5% de reducción del ritmo cardiaco, 41% de reducción en el pico máximo de la corriente de calcio tipo L y 17% de aumento del tiempo de pico de la concentración intracelular de calcio [4].

Del análisis de sensibilidad se desprende que modificando exclusivamente los parámetros del modelo de Markov no es posible conseguir a la vez los resultados observados en los datos experimentales. Los parámetros K_{oCa} , K_{oCa}_{Kim} y K_iCa permiten obtener simultáneamente las tendencias en el pico máximo de la corriente de calcio tipo L y el tiempo de pico de la concentración intracelular de calcio, pero no es posible ajustar el periodo del potencial de acción.

Para ello se introduce un desplazamiento en la compuerta de activación (d_l) de la corriente de calcio tipo L. Esta modificación se sustenta en un análisis de sensibilidad elaborado por el grupo desarrollador del modelo [8], donde se muestra que un desplazamiento negativo de la compuerta incrementa el BCL.

Se simuló el protocolo de *voltage clamp* de la corriente I_{CaL} . Los datos experimentales disponibles mostraban un 41% de reducción del pico máximo de la corriente en presencia de la mutación R420Q. El valor experimental se consigue con un desplazamiento de entre -10 y -9 mV en

nuestras simulaciones. La figura 4 muestra la evolución temporal de la corriente y el protocolo empleado.

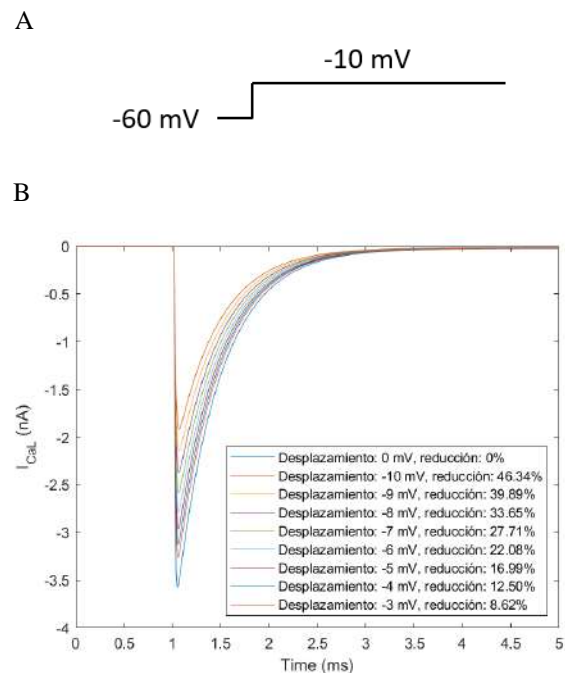


Figura 4: (A) Protocolo de estimulación. (B) Evolución temporal de la I_{CaL} donde se muestra el desplazamiento aplicado y el porcentaje de reducción del pico máximo de la corriente.

En la figura anterior se puede observar como al disminuir el valor del desplazamiento también lo hace el porcentaje de reducción del pico máximo de corriente.

Para estudiar el efecto conjunto de modificar los parámetros del modelo de Markov y el desplazamiento de la compuerta, se realizan nuevas simulaciones multiplicando y dividiendo por 3, 10, 30 y 100 los parámetros K_{oCa} , K_{oCa}_{Kim} y K_iCa en combinación con un desplazamiento de -3mV en la compuerta de activación. Se tuvo que limitar el valor del desplazamiento de esta compuerta para garantizar la estabilidad del modelo.

La combinación del desplazamiento de -3 mV y de la multiplicación por 30 del parámetro K_{oCa} produce un 19.04% de aumento del tiempo de pico de la concentración intracelular de calcio, un 25.63% de aumento del BCL y un 19.26% de reducción del pico de la corriente I_{CaL} (ver figura 5). Estos resultados están en línea con los valores experimentales observados en la mutación R420Q del canal RyR2.

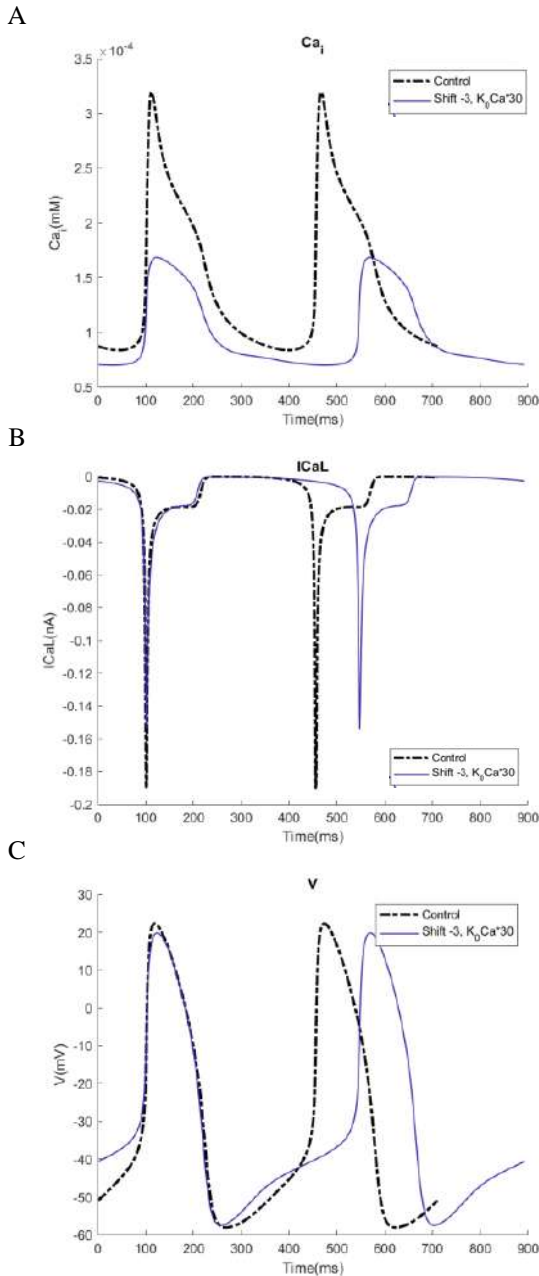


Figura 5: Evolución temporal de la combinación seleccionada como modelo de la mutación de (A) concentración intracelular de calcio (B) corriente de calcio tipo L (C) Potencial de membrana.

4. Conclusiones

Se ha propuesto un modelo que reproduce las tendencias experimentales observadas en pacientes portadores de dicho defecto congénito. Este modelo puede resultar muy útil en la investigación de nuevas terapias para dichos pacientes.

El estudio se ha centrado en células del nodo sinoauricular. Sin embargo, como la mutación es responsable de la generación de arritmias ventriculares, en el futuro sería interesante desarrollar un modelo de célula ventricular.

5. Agradecimientos.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) DPI2015-69125-R (MINECO/FEDER, UE) y por la Generalitat Valenciana, Programa Prometeo: 2016/088.

6. Referencias.

- [1] Domingo, D. (2014). *Rasgos no ventriculares, clínicos y funcionales de la mutación RyR22R420Q causante de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica.*
- [2] Romero, L., Trenor, B., Yang, P., Saiz, J. and Clancy, C. (2014). In silico screening of the impact of hERG channel kinetic abnormalities on channel block and susceptibility to acquired long QT syndrome. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 72, pp.126-137.
- [3] Yang, P., Moreno, J., Miyake, C., Vaughn-Behrens, S., Jeng, M., Grandi, E., Wehrens, X., Noskov, S. and Clancy, C. (2015). In silicoprediction of drug therapy in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *The Journal of Physiology*, 594(3), pp.567-593.
- [4] Wang, Y. (2017). RyR22R420Q catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia mutation induces bradycardia by disturbing the coupled clock pacemaker mechanism. *JCI Insight*, 2(8).
- [5] Severi, S. (2012). An updated computational model of rabbit sinoatrial action potential to investigate the mechanisms of heart rate modulation. *The Journal of Physiology*, 590(18), pp.4483-4499.
- [6] Stern, M. (1999). Local control models of cardiac excitation-contraction coupling. *The Rockefeller University Press*, 113, pp.469-489.
- [7] Romero, L., Pueyo, E., Fink, M. and Rodríguez, B. (2009). Impact of ionic current variability on human ventricular cellular electrophysiology. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 297(4), pp.H1436-H1445.
- [8] Fabbri, A. (2017). Computational analysis of the human sinus node action potential: model development and effects of mutations. *The Journal of Physiology*, 595(7), pp.2365-2396.

Imagen Biomédica III

Jueves, 22 de noviembre

Desarrollo de un sistema automático para la segmentación de estructuras glandulares en imágenes histológicas de próstata

J.G. García-Pardo¹, A. Colomer¹, V. Naranjo¹, M.A. Sales-Maicas² y F.J. García-Morata²

¹Instituto de Investigación e Innovación en Bioingeniería (I3B), Universitat Politècnica de València, España.

²Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario de Valencia, España.

{jogarpa7, adcogra, vnaranjo}@i3b.upv.es

Resumen

Hoy en día, el cáncer de próstata es uno de los tipos de cáncer más frecuentemente diagnosticados, situándose en el segundo puesto en cuanto a incidencia y prevalencia a 5 años se refiere. Por ello, en este trabajo se diseña y se desarrolla un sistema automático de segmentación de unidades de glándula en imágenes histológicas, con el objetivo de contribuir a la mejora del diagnóstico del cáncer de próstata. Se propone una estrategia de clasificación no supervisada basada en métodos de clustering para obtener por separado los diferentes componentes tisulares que aparecen en las imágenes histológicas teñidas con Hematoxilina y Eosina (H&E). Se hace uso de distintos espacios de color, así como de diversas operaciones morfológicas, para eliminar parte del ruido de las máscaras de los componentes. A partir de los elementos relativos al lumen, se implementa una novedosa técnica de segmentación, nunca antes utilizada en este tipo de imágenes, conocida como “Locally Constrained Watershed Transform” (LCWT). Dicha técnica permite llevar a cabo la segmentación de las glándulas prostáticas en base a los núcleos epiteliales que las rodean. Se seleccionan de forma aleatoria, y se segmentan manualmente, 500 glándulas, tanto benignas como patológicas de grado 3, para evaluar la técnica LCWT. Finalmente, los resultados obtenidos para los coeficientes de Dice y de Jaccard son 0.856 y 0.748, respectivamente. Dichos resultados se comparan, de forma indirecta, con los publicados por otros autores en el estado del arte.

1. Introducción

En la actualidad, según la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), el cáncer de próstata es uno de los cánceres más comunes en la población española [1]. Aunque su tasa de mortalidad es baja, sus altas incidencia y prevalencia a 5 años motivan la investigación de sistemas de ayuda que permitan proporcionar un diagnóstico temprano con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes con dicha enfermedad.

El procedimiento diagnóstico para el cáncer de próstata reside en una serie de pruebas como tacto rectal, el análisis de PSA (del inglés – *Prostate Specific Antigen*), el análisis de PCA3 (del inglés – *Prostate Cancer Antigen*), etc. que realizan los expertos en busca de anomalías en la glándula prostática. En caso de encontrarlas, el diagnóstico definitivo pasa por llevar a cabo una biopsia para extraer una muestra de tejido que, tras un proceso de preparación, los patólogos examinan, bien bajo el microscopio, o bien en el ordenador si previamente las imágenes han sido escaneadas. (Véase la Figura 1).

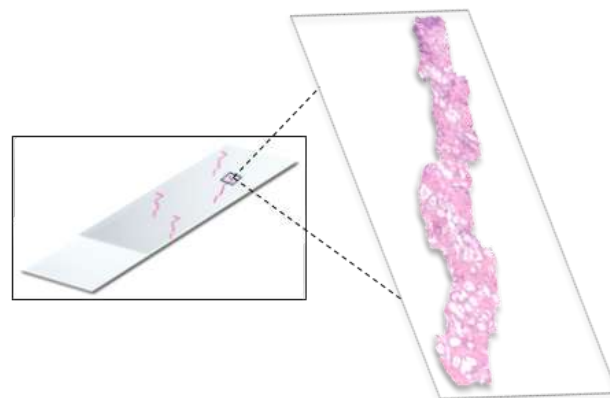


Figura 1. Ejemplo de un portaobjetos con muestras de una biopsia de tejido prostático.

A partir de estas imágenes, los patólogos asignan una puntuación de acuerdo al sistema de clasificación de Gleason [2] tal que, los grados 1 y 2 corresponden a muestras benignas y los grados 3, 4 y 5 se asocian a muestras patológicas. De este modo, las imágenes histológicas constituyen una herramienta fundamental para llevar a cabo un diagnóstico preciso. No obstante, el análisis de dichas imágenes supone una tarea manual muy tediosa que consume mucho tiempo y que lleva asociado un elevado nivel de subjetividad por parte de diferentes patólogos.

El procedimiento estándar que presenta la mayoría de los estudios basados en sistemas de ayuda al diagnóstico del cáncer de próstata consiste en segmentar algunas glándulas individuales y, después, clasificarlas en su grado correspondiente [3]–[5]. No obstante, un reciente estudio llevado a cabo en [6] expone que, para conseguir mejoras significativas en la discriminación de los grados de las muestras según la escala Gleason, es esencial llevar a cabo una segmentación inicial más precisa de las estructuras glandulares. En base a esta afirmación, el presente artículo se centra en la identificación y en la segmentación de cada estructura glandular (como la que se muestra en la Figura 2) con el objetivo de obtener glándulas mejor definidas que faciliten su clasificación en la clase correspondiente, a partir de una extracción y una selección de características.

El método propuesto de segmentación de glándulas requiere previamente una rigurosa detección de los lúmenes, los cuales son a menudo confundidos con

artefactos debido a que también presentan un color blanco. Sin embargo, a diferencia de los lúmenes, los artefactos no están rodeados de tejido de citoplasma ni de núcleos, como se puede observar en la Figura 2.

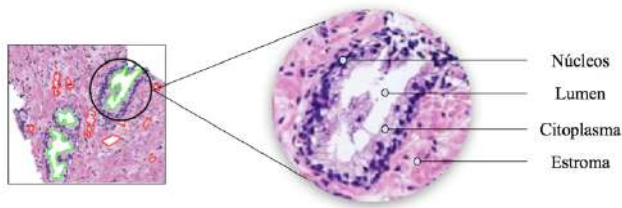


Figura 2. En la izquierda, ejemplos de lúmenes (en verde) y de artefactos (en rojo). En la derecha, ejemplo de una estructura glandular individual con sus componentes señalados.

En este estudio, se aplican técnicas de *clustering* sobre diferentes espacios de color, además de operaciones morfológicas de filtrado, para eliminar los artefactos y llevar a cabo la segmentación de las unidades de glándula.

2. Metodología

2.1. Material

La base de datos utilizada en este artículo incluye 854 imágenes benignas y 614 imágenes patológicas de grado 3, procedentes de 25 pacientes diferentes. Dichas imágenes se corresponden con un aumento de 10x y con unas dimensiones de 1024x1024x3 píxeles. A partir de ellas, se obtienen 3.195 glándulas benignas y 3.000 glándulas patológicas. Las muestras provienen de una base de datos privada del Hospital Clínico Universitario de Valencia y se caracterizan por presentar una alta variabilidad de las glándulas en términos de tamaño y forma, así como de color y nitidez en la tinción de hematoxilina y eosina.

2.2. Clasificación no supervisada

Se aplican algoritmos de *clustering* basados en la técnica *k-means* para agrupar en diferentes clases los píxeles de las imágenes histológicas asociados a las estructuras de los lúmenes, de los núcleos, del citoplasma y del estroma (véase la Figura 3). De esta forma, cada píxel de la imagen se asigna a la etiqueta del *cluster* cuyo centroide es el más cercano, en términos de distancia euclídea.

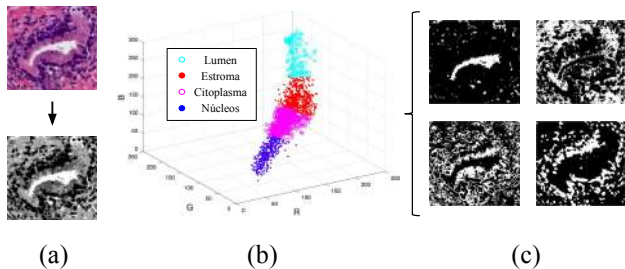


Figura 3. (a) Etiquetado de la imagen. (b) Distribución de los píxeles en el espacio tridimensional. (c) Máscaras obtenidas de los lúmenes, del estroma, del citoplasma y de los núcleos, de arriba abajo y de izquierda a derecha, respectivamente.

Puesto que las máscaras obtenidas de cada componente son utilizadas como parámetros de entrada del algoritmo de segmentación, las técnicas de *clustering* también se aplican sobre otros espacios de color a fin de mejorar la

clasificación de los elementos y eliminar parte del ruido presente en las imágenes binarias. Por un lado, se hace uso del canal de saturación (S) del espacio de color HSV (del inglés – *Hue, Saturation, Value*) para obtener la máscara de lúmenes. Por otro lado, se utiliza el canal cian (C) del espacio de color CMYK (del inglés – *Cyan, Magenta, Yellow, Key*) para obtener las máscaras relativas al estroma y al citoplasma. Y en lo que respecta a la máscara de núcleos, se mantiene el espacio de color RGB (del inglés – *Red, Green, Blue*). (Véase la Figura 4).

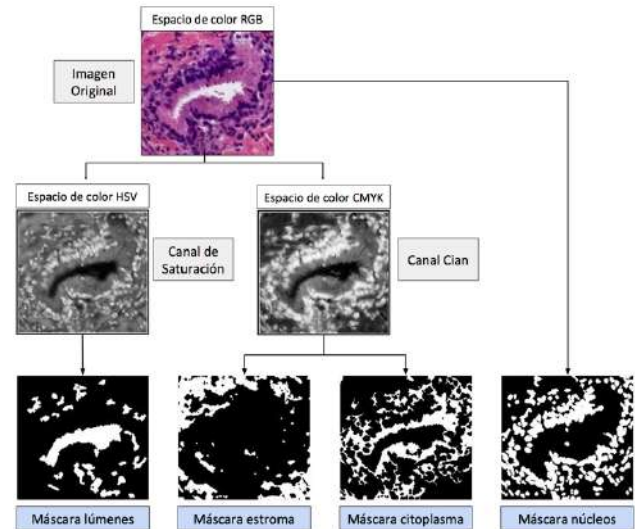


Figura 4. Diagrama explicativo del proceso de obtención de máscaras aplicando diferentes espacios de color.

2.3. Post-procesado

La máscara de lúmenes es fundamental a la hora de aplicar el método de segmentación, ya que cada “objeto” individual de la máscara actúa como una semilla a partir de la cual se inicia la segmentación de la glándula. Por este motivo, es necesario implementar un post-procesado mediante operaciones morfológicas que permita eliminar los artefactos de lumen (Figura 5). Concretamente, para la máscara de lúmenes se hace uso de una técnica de filtrado llamada “*area opening*” (ecuación 1) que logra eliminar todos aquellos objetos en blanco cuyas áreas, en número de píxeles, son menores que un determinado umbral [7]. Concretamente, en este trabajo se fija dicho umbral en $t = 20$ píxeles, pues en imágenes de 1024x1024 no se aprecian objetos de lumen con un área inferior.

$$\gamma_t(X) = \bigvee_i \{ \gamma_{B_i} \mid B_i \text{ es el objeto en blanco} \\ \text{y la cardinalidad de } B_i = t \} \quad (1)$$

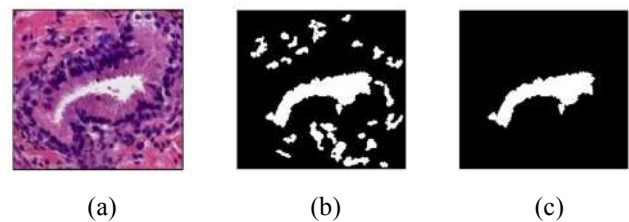


Figura 5. (a) Imagen original. (b) Máscara de lúmenes tras aplicar las técnicas del clustering. (c) Máscara de lúmenes a la salida del post-procesado.

2.4. Segmentación de estructuras glandulares

El método de segmentación implementado en este trabajo consiste en una variante de la técnica tradicional conocida como “watershed con marcadores”. Dicha técnica considera la imagen inicial en escala de grises como un relieve topográfico en el que se simula un proceso de inundación tal que, a partir de establecer un marcador en el interior de la región a segmentar y otro en el exterior, es posible delimitar dicha región por los bordes de la misma. La diferencia del caso estándar con respecto al propuesto en este artículo radica en que los bordes de una estructura glandular se constituyen a partir de los núcleos epiteliales presentes a su alrededor, tal y como estipula la literatura médica [3]. Por consiguiente, dado que los núcleos se disponen conformando una frontera abierta alrededor de la glándula, es decir, no constituyen una frontera continua, en este trabajo se propone una técnica de segmentación conocida como “Locally Constrained Watershed Transform” (LCWT) [8]. Esta novedosa técnica requiere como parámetros de entrada: 1) marcadores internos, definidos por la máscara de lúmenes; 2) marcadores externos, definidos por la máscara de estroma; 3) una imagen de entrada, definida por la máscara de núcleos; y 4) elementos estructurantes (EE) relativos a ambos marcadores para especificar el tamaño del vecindario a considerar en cada caso. El funcionamiento del sistema (Figura 6) consiste en que cada marcador analiza los píxeles de su vecindario intentando incorporarlos a su región. El avance en busca de integrar nuevos píxeles se lleva a cabo en función del EE definido para cada marcador. Por otra parte, los núcleos que componen la imagen de entrada actúan a modo de restricción al progreso de los marcadores, ya que la expansión de un marcador es detenida si el tamaño de su EE es mayor que la distancia entre núcleos adyacentes. De esta forma, la frontera de segmentación queda definida cuando ambos marcadores entran en contacto.

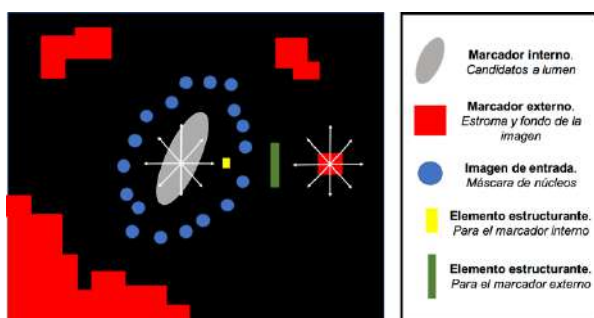


Figura 6. Ejemplo ilustrativo que muestra visualmente el funcionamiento de la técnica LCWT.

Como puede apreciarse en la figura anterior, los dos marcadores intentan avanzar por la imagen, en todas direcciones, con tamaños de paso definidos por sus respectivos EE. En el caso propuesto, el marcador externo quedará obstaculizado entre los núcleos que delimitan el borde de la glándula debido al elevado tamaño de su EE. Por el contrario, el EE del marcador interno tiene unas dimensiones más pequeñas, lo que le permite avanzar más despacio y entrar en contacto con el marcador externo, estableciendo así la línea de segmentación alrededor de los núcleos epiteliales de la glándula.

En la Figura 7 se expone un ejemplo real en el que se puede observar, con la misma gama de colores, la información esquemática representada en el modelo ilustrativo de la figura anterior.

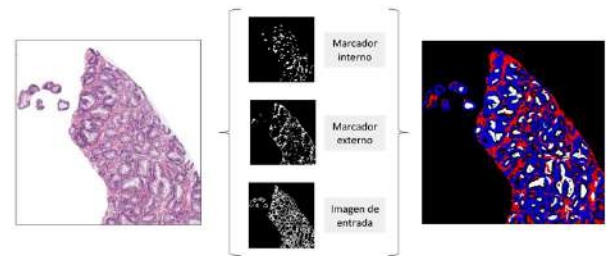


Figura 7. Ejemplo que muestra el uso de las máscaras obtenidas en la fase de clasificación no supervisada, como parámetros de entrada del algoritmo basado en la técnica de segmentación LCWT.

El método propuesto permite obtener por separado cada una de las glándulas detectadas en la imagen original, a fin de poder estudiar características, de forma individual, de cada una de las glándulas (véase la Figura 8). El tiempo computacional que supone segmentar una imagen completa de $1024 \times 1024 \times 3$ como la de la Figura 8(a) es de 43.20 segundos, aproximadamente. No obstante, el coste computacional puede variar en función del número de posibles glándulas presentes en la imagen.

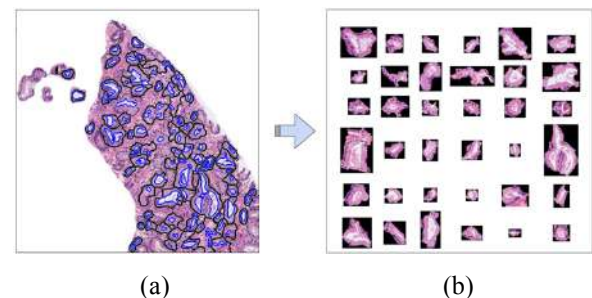


Figura 8. (a) Imagen de $1024 \times 1024 \times 3$ píxeles con las glándulas segmentadas en negro y los lúmenes en azul. (b) Glándulas segmentadas automáticamente y almacenadas individualmente.

En base a lo expuesto, cabe destacar que, a diferencia de otros estudios del estado del arte, como el propuesto en [3], donde los límites de la glándula son definidos a partir de la estructura del citoplasma, en este trabajo, de manera similar al publicado en [4], la segmentación se lleva a cabo a partir de los núcleos epiteliales que rodean la glándula. En la Figura 9 se expone la diferencia entre las segmentaciones realizadas en los estudios mencionados anteriormente con respecto a este artículo.

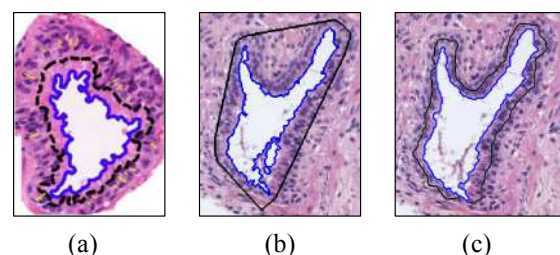


Figura 9. (a) Ejemplo de glándula segmentada publicado en [3]. (b) Glándula segmentada con el método presentado en [4]. (c) Glándula segmentada con la técnica LCWT propuesta en este trabajo.

3. Resultados y discusión

3.1. Resultados cualitativos

Para evaluar la técnica LCWT se lleva a cabo una segmentación manual de 500 glándulas extraídas aleatoriamente de las bases de datos de imágenes benignas y de imágenes patológicas. Dicha segmentación ha sido validada por patólogos expertos del Hospital Clínico Universitario de Valencia. En la Figura 10 se exponen algunos ejemplos, en formato RGB, de glándulas de diferentes tamaños y formas, donde se muestran las segmentaciones manual y automática superpuestas.

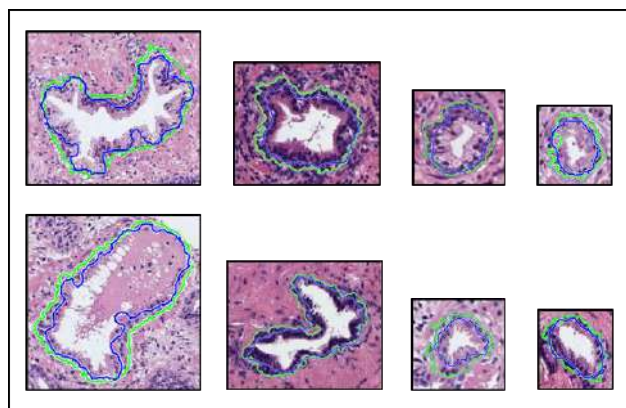


Figura 10. Ejemplos de diferentes glándulas segmentadas manual y automáticamente, en verde y en azul, respectivamente.

En general, los resultados cualitativos de la segmentación de las unidades glandulares son considerablemente buenos, teniendo en cuenta que la línea de segmentación se adapta al contorno de la glándula definido por los núcleos epiteliales alrededor de la misma.

La hipótesis de partida es que los resultados obtenidos para el tamaño muestral de 500 glándulas pueden ser perfectamente inferidos para toda la población, que en este caso se trata de 6.195 glándulas (3.195 benignas y 3.000 patológicas).

3.2. Resultados cuantitativos

La evaluación cuantitativa de la técnica LCWT se efectúa mediante los coeficientes de *Dice* y de *Jaccard* que permiten comparar las segmentaciones automática y manual, en términos de similitud. Concretamente, en este trabajo se obtienen unos valores de 0.856 y de 0.748, respectivamente, para los coeficientes mencionados.

En la Tabla 1 se expone la comparación de los resultados obtenidos con respecto a los publicados por otros autores en [3], [4], [9] y [10].

	Naik et al.	Nguyen et al.	Mónaco et al.	Xu et al.	Método propuesto
Tipo de muestras	A nivel de glándula	A nivel de glándula	A nivel de glándula	Whole-Slide image	A nivel de glándula
Número de muestras	309	309	309	196	500
Coefficiente <i>Jaccard</i>	0.43	0.66	0.31	0.69	0.75

Tabla 1. Comparación de la segmentación realizada con la técnica LCWT con respecto a otros estudios del estado del arte.

Cabe destacar que la comparación se lleva a cabo de forma indirecta, ya que, al no disponer de una base de datos pública, las imágenes son muy diferentes en cuanto a tinción, dimensiones y resolución se refiere.

4. Conclusiones y líneas futuras

En este artículo se ha implementado un exhaustivo procedimiento de clasificación no supervisada para obtener las máscaras relativas a los distintos componentes que presentan las imágenes histopatológicas teñidas con hematoxilina y eosina. Por otra parte, se ha propuesto un novedoso método de segmentación que permite delimitar las estructuras glandulares en base a los núcleos epiteliales que las rodean. Las líneas futuras de investigación pasan por llevar a cabo una estrategia de clasificación de acuerdo al sistema de puntuación de *Gleason*, a partir de las glándulas segmentadas automáticamente con la técnica LCWT.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad bajo el proyecto SICAP (DPI2016-77869-C2- 1-R). Se agradece el apoyo de NVIDIA por su donación de la GPU Titan XP empleada en este trabajo.

Referencias

- [1] Página web de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). 2018. <https://www.seom.org/es/noticias/106525-las-cifras-del-cancer-en-espana-2018>. (Consultada: Junio 2018).
- [2] Gleason DF. Histological grading and clinical staging of prostatic carcinoma. *Urol. Pathol. Prost.* vol. 171, 1977.
- [3] Naik S, Doyle S, Feldman M, Tomaszewski J, Madabhushi A. Gland Segmentation and Computerized Gleason Grading of Prostate Histology by Integrating Low-, High-level and Domain Specific Information.
- [4] Nguyen K, Sarkar A, Jain AK. Structure and Context in Prostatic Gland Segmentation and Classification. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012, pp. 115–123.
- [5] Kwak JT, Hewitt SM. Multiview boosting digital pathology analysis of prostate cancer. *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 142, pp. 91–99, 2017.
- [6] Ren J, Sadimin E, Foran DJ, Qi X. Computer aided analysis of prostate histopathology images to support a refined Gleason grading system. vol. 10133, p. 101331V, 2017.
- [7] Soille P. Morphological Image Analysis : Principles and Applications. Springer Berlin Heidelberg, 2004.
- [8] Beare R. A locally constrained watershed transform. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 28, no. 7, pp. 1063–1074, 2006.
- [9] Monaco JP *et al.* High-throughput detection of prostate cancer in histological sections using probabilistic pairwise Markov models. *Med. Image Anal.*, vol. 14, no. 4, pp. 617–629, 2010.
- [10] Xu J, Janowczyk A, Chandran S, Madabhushi A. A high-throughput active contour scheme for segmentation of histopathological imagery. *Med. Image Anal.*, vol. 15, no. 6, pp. 851–862, 2011.

Aplicación de técnicas de aprendizaje profundo (deep learning) a clasificación de imágenes histológica

A. Suárez Lamadrid¹, B. Acha Piñero², C. Serrano Gotarredona³

¹ Universidad de Sevilla, Sevilla, España, alesualam@gmail.com

² Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, bacha@us.es

³ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, cserrano@us.es

Resumen

El cáncer es una enfermedad cuyo temprano diagnóstico es vital para su tratamiento. Un parámetro utilizado por los expertos para su detección es el denominado grado de proliferación, calculado a partir de las figuras mitóticas presentes en imágenes de muestras histológicas. Esta se trata de una tarea que se realiza de forma manual y que resulta complicada, creando discrepancias entre los patólogos. Con el fin de solucionar este problema, en los últimos años se han desarrollado algoritmos que permitan de forma automática detectar posibles mitosis. Estos algoritmos pueden dividirse en aquellos que hacen uso de técnicas de extracción de características de la imagen y, en los últimos años, aquellos que hacen uso de redes neuronales convolucionales y aprendizaje profundo. Este artículo presenta el desarrollo de un método de entrenamiento con Transfer Learning para una arquitectura de red neuronal conocida y de uso extendido y su implementación en forma de aplicación de análisis y detección de posibles figuras mitóticas. El método y aplicación han sido validados obteniendo una alta sensibilidad y un valor F1 de 0.5253.

1. Introducción

El cáncer es una enfermedad que representa altos índices de mortalidad en la actualidad. Consiste en una división descontrolada por parte de algunas células del cuerpo y que se diseminan a los tejidos de alrededor. Un importante factor en el tratamiento de esta enfermedad lo constituye un temprano diagnóstico, el cual en ocasiones se realiza mediante la detección y conteo de figuras mitóticas en imágenes histológicas. Esta tarea es manual, difícil de realizar y constituye una fuente de discrepancias al existir la posibilidad de encontrar estas figuras en 4 fases distintas, con aspectos ligeramente diferentes y que además aparecen en tejidos rodeadas de otros elementos de aspecto muy similar.

Con el desarrollo de la imagen digital, la mejora en los instrumentos de adquisición de imágenes y los avances en algoritmos de análisis de las mismas, existen en el estado del arte diversas aproximaciones a este problema, que buscan crear herramientas de ayuda al diagnóstico. Las primeras de ellas se basan en un tratamiento tradicional de las imágenes para la extracción de características típicas de forma, color y textura que permitieran establecer una clasificación [1]. En los últimos años, el desarrollo de campos de la ciencias de los datos y la inteligencia artificial ha dado lugar a una gran materia que ocupa un importante

lugar en nuestros días: el aprendizaje automático. Caracterizado por hacer uso de arquitecturas de redes de neuronas, han surgido técnicas denominadas de aprendizaje profundo que permiten realizar predicciones de resultados a partir de unos datos, previo entrenamiento. En el caso del tratamiento de imagen, existen modelos de redes neuronales convolucionales (CNN) que intentan emular el sistema visual humano, extrayendo desde características simples a estructuras más complejas para generar un clasificador que busca tener una mayor precisión, como así lo muestran diferentes métodos ya existentes [2-3]. Estos resultados favorables son fruto de una clasificación en base a unas mejores características extraídas por parte de la red y una capacidad de generalización de la misma que permite, en este caso, encontrar unos elementos que como puede observarse en la figura 1, son de apariencia compleja.

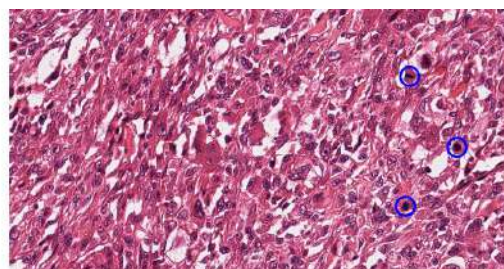


Figura 1. Imagen típica a tratar en este problema, con las mitosis detectadas por expertos señaladas en azul.

2. Método propuesto

Para conseguir la aplicación final capaz de detectar figuras mitóticas fue necesario en primer lugar establecer los materiales y herramientas que serían necesarios. Para la parte del trabajo relacionada con *Deep Learning* se seleccionó una arquitectura de red ResNet34 [4], muy utilizada y de capacidad de clasificación muy buena para la base de datos ImageNet con la que se encuentra entrenada. El proceso de entrenamiento se ha realizado con la librería para Python fast.ai [5], la cual implementa potentes y útiles herramientas y algoritmos de aprendizaje basados en el entorno de trabajo PyTorch [6], el cual está teniendo un gran impacto en la comunidad científica por su rendimiento y posibilidades. En cuanto al desarrollo de la aplicación que implementa la red entrenada, con el objetivo de mantener una homogeneidad en las tecnologías utilizadas se ha realizado en el lenguaje de programación Python, apoyado

principalmente por el uso de la librería de computación científica Numpy y de representación de figuras y resultados Matplotlib.

2.1. Base de datos

Para el entrenamiento de la red neuronal se usaron los datos pertenecientes a una base de datos del Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016 [7], en concreto aquella denominada *Auxiliary dataset: mitosis*, la cual se consideró adecuada por incluir imágenes acompañadas de tablas que determinan la posición del píxel central de cada figura mitótica. Esta base de datos está formada por 73 casos de cáncer de mama, dando lugar a un total de 656 muestras tomadas con microscopios Leica SCN400 y con mitosis detectadas gracias al consenso de al menos dos expertos. En total se tienen 1552 mitosis las cuales no superan un tamaño de 100x100 píxeles que pueden encontrarse repartidas en muestras que alcanzan dimensiones de hasta 5657x5657 píxeles. Dada la complejidad de estas imágenes y su tamaño, fue necesario un tratamiento previo con el fin de aislar las mitosis y obtener candidatos de entrenamiento.

2.2. Mejora de la base de datos.

El paso previo al entrenamiento de la red consistió en una extracción de candidatos para el algoritmo, el cual se realizó mediante recortes en las imágenes de partida de 100x100 píxeles, cuyo píxel central corresponde a aquel indicado en las tablas de la base de datos. Por otro lado, las imágenes se recortaron para obtener también candidatos para una clase con ausencia de mitosis, la cual permitiera al algoritmo diferenciar entre un elemento que pareciera ser una mitosis y uno que lo fuera realmente.

Al realizar esta diferenciación el primer problema se hizo evidente, ya que existía un desequilibrio entre ambas clases al constituir 1552 candidatos la clase *mitosis* y 261266 la clase *no mitosis*. El siguiente paso fue equilibrar ambas clases. Para ello, se aplicaron técnicas de *Data Augmentation* a la clase *mitosis*, de modo que por cada mitosis se obtuvieron 10 variaciones de la misma, realizando la selección de mitosis en la imagen original desplazando la ventana de recorte un número aleatorio de píxeles entre 0 y 20 en diferentes direcciones y aplicando rotaciones también aleatorias.

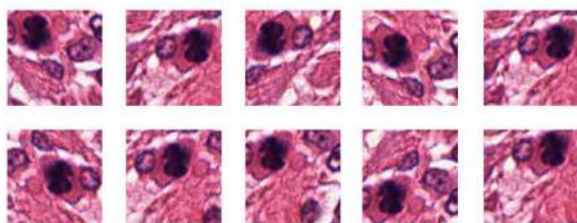


Figura 2. *Data Augmentation* aplicado a una mitosis.

Por otro lado, para equilibrar las clases se redujo aquella de *no mitosis* hasta una cifra igual a la de *mitosis*, la cual tras

el proceso de aumento tenía un número de 15520 imágenes. La elección de candidatos definitivos para la clase *no mitosis* se hizo de manera aleatoria.

Una vez obtenida una base de datos mejorada y equilibrada fue posible iniciar el proceso de entrenamiento. Para ello se generó una división dentro de la base de datos con los prototipos que se usarían para entrenamiento (14520 de cada clase) y aquellos con los que validar el modelo (1000 de cada clase). Esta división se realizó con cuidado, ya que al tener la clase *mitosis* procesada y estar presente cada una de estas figuras 10 veces en forma de variaciones de la original no se deseaba que un mismo elemento estuviera presente en los grupos de entrenamiento y validación. Con esto se tiene un entrenamiento correcto y unos resultados de precisión y pérdidas reales.

2.3. Entrenamiento de la red.

El entrenamiento se realizó en dos fases. Al estar utilizando una arquitectura de red ya entrenada, se quiso aplicar técnicas de *Transfer Learning* con el fin de aprovechar parte del conocimiento almacenado en la red y agilizar el proceso.

En primer lugar, se generó una nueva capa para la red que se conectó al final de la misma, entrenándola desde cero con la base de datos a la cual se le aplica un nuevo *Data Augmentation* con valor 6 el cual genera nuevas rotaciones y ligeros aumentos. Para este proceso fue necesario además seleccionar un parámetro de *learning rate* el cual fue calculado mediante un algoritmo implementado por la librería que permite hallarlo con cierta precisión. Este número no es algo fijo sino que varía con las iteraciones del algoritmo, disminuyendo progresivamente para afinar el resultado y reiniciándose al valor inicial para encontrar soluciones que aumenten la capacidad de generalización de la red. Al finalizar el proceso, la red ofrecía una precisión de clasificación del 87.11% y unas pérdidas de 0.2943.

La segunda fase del entrenamiento consiste en un *Fine Tuning*, con el cual se consigue ajustar de forma ligera los pesos del resto de la red para la nueva base de datos. Se utilizó para este caso una técnica de *differential learning rate* con el cual se consigue modificar los pesos de la red en diferente grado en función de la posición de la capa a entrenar. Es decir, con esto se busca modificar muy poco los pesos de las primeras capas las cuales extraen características básicas e ir aumentando este entrenamiento en capas más profundas. La elección de parámetros para esta técnica se realizó dividiendo la red en 3 zonas y escogiendo unos valores de $[lr/9 \ lr/3 \ lr]$ respectivamente, siendo *lr* el *learning rate* escogido en la primera fase del entrenamiento. De este proceso se obtuvo una red con precisión de clasificación del 98.5% sobre la base de datos de validación y unas pérdidas de 0.0446, mejorando considerablemente los resultados previos.

2.3. Resultados de la red.

La red fue validada con los datos de validación constituidos por 2000 imágenes pertenecientes a ambas clases a las que se les aplicó un proceso de *Test Time Augmentation* (TTA), similar al de *Data Augmentation*. Los resultados eran favorables y con ellos se elaboró una matriz de confusión para conocer en detalle los errores cometidos en la predicción, la cual puede observarse en la Figura 3.

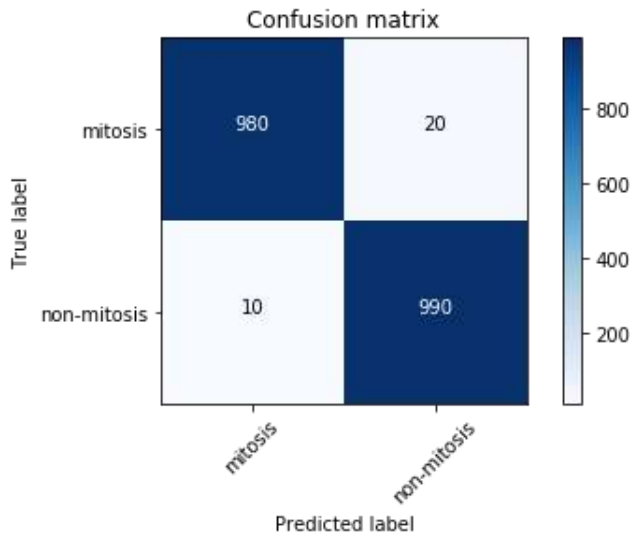


Figura 3. Matriz de confusión del método propuesto.

De esta representación y observando aquellas imágenes erróneamente clasificadas pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- La red tiene una gran capacidad en la detección de mitosis, siendo capaz de determinar con precisión qué elementos son este tipo de figuras.
- A la vista de las imágenes mal clasificadas, pudo observarse que algunas corresponden a algunas variaciones de una misma mitosis, por lo que estas sí fueron bien clasificadas a partir de otra de estas variantes.
- Se observó que algunas mitosis mal clasificadas se encontraban en los bordes de la imagen, en algunos casos dando lugar a vistas incompletas de la misma.

3. Implementación de la red

El último paso fue el desarrollo de una aplicación que fuera capaz de realizar predicciones haciendo uso de la red entrenada. El objetivo era poder introducir una muestra histológica de entrada y obtener como salida la misma muestra con la clasificación realizada por la red, marcando aquellas regiones donde hubiera una figura mitótica. La aplicación fue desarrollada en el lenguaje de programación Python, ya que gracias a la librería de manejo de imágenes Pillow permite obtener un buen rendimiento de procesamiento y análisis, muy importante para este caso en el que se trabaja con imágenes de grandes dimensiones.

La herramienta final se basa en diferentes funciones, que implementan una exploración por bloques de la imagen los

cuales son sometidos a una predicción por parte de la red. Esta exploración se apoya en dos principios:

- Análisis de la imagen con solapamiento del 50% en sentido horizontal y vertical para evitar que una mitosis no se detecte al quedar dividida entre dos bloques al recorrer la imagen., como puede observarse en la Figura 4.

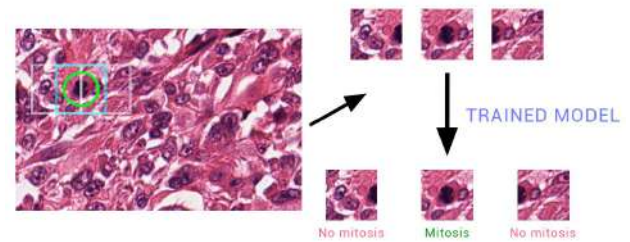


Figura 4. Exploración por bloques correcta.

- Fusión de bloques vecinos si en ellos se detecta mitosis, con el objetivo de no contar una misma mitosis varias veces. Este efecto es producto del uso de la exploración con solapamiento y queda representado en la Figura 5.

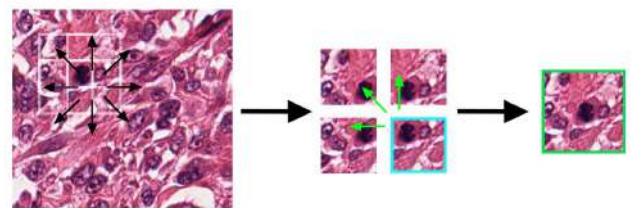


Figura 5. Exploración por bloques correcta.

3.1. Resultados de la aplicación.

Para probar el funcionamiento de la aplicación y su capacidad realizando predicciones se analizaron algunas de las muestras de 23 de los casos de partida. Se calcularon a partir de este análisis un valor F1 y se elaboraron estadísticas en base a la detección correcta de mitosis.

Los resultados obtenidos señalaron que de las 537 mitosis que se estudiaron, fueron detectadas 499 correctamente y existieron 826 falsos positivos, dando lugar a un valor F1 de 0.5253.

De un estudio en profundidad de estos resultados se extrajeron las siguientes conclusiones:

- La aplicación era capaz de clasificar con precisión aquellos elementos que realmente son mitosis.
- El alto número de falsos positivos es causado por varios factores. En primer lugar la reducción de la clase *no mitosis* reduce la información que la red aprende de estos elementos. Por otro lado, en algunos casos en los cuales existe un gran número de mitosis dentro de una muestra, aparecen además numerosos elementos muy similares a las figuras que se quieren detectar.

- En base al punto anterior, se ha observado que las predicciones son mejores y el número de falsos positivos casi inexistente en muestras con poca o ninguna presencia de mitosis.
- En cuanto a las mitosis reales que no se detectan, el efecto es similar al observado en la validación del modelo, teniendo malas predicciones en mitosis que se encuentran en los bordes de la muestra.
- El análisis de una imagen tiene una duración de 30 segundos en una máquina con especificaciones *hardware* de un equipo de gama media.
- El valor final alcanzado es similar al que se obtiene en otros métodos presentes en el estado del arte.

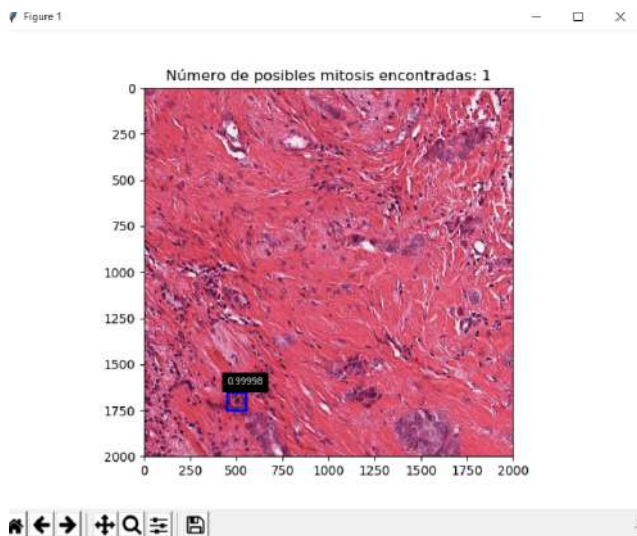


Figura 6. Exploración por bloques correcta

4. Conclusiones y líneas futuras

En este trabajo se presenta un método para la detección automática de figuras mitóticas en muestras histológicas basado en técnicas de aprendizaje profundo y redes neuronales convolucionales. La implementación de una red entrenada da lugar a una herramienta capaz de realizar predicciones a partir de una imagen de entrada y cuyos resultados de precisión se asemejan a los presentados en el Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016.

El método se basa en un entrenamiento de red neuronal con técnicas y herramientas que han resultado de interés y que son de fácil acceso. Al utilizar una arquitectura de red conocida y un entorno de trabajo con buen rendimiento es posible reproducir este método sin necesidad de equipos especializados con altas capacidades. Además, existe la opción de adaptarlo a diferentes necesidades y problemas en el ámbito de la medicina mediante un ajuste correcto de parámetros.

Durante la realización del trabajo fueron encontradas diversas dificultades. La base de datos de imágenes es limitada y resulta insuficiente en comparación a las que suelen utilizarse en este tipo de técnicas. Por otro lado, el número de candidatos y la dimensión que tiene el problema generan el ya mencionado problema de desbalanceo de clases. Pese a ello, los resultados obtenidos son favorables aunque presentan un margen de mejora.

Finalmente, cabe destacar que con este trabajo se intenta solucionar un problema y ofrecer una ayuda a los expertos médicos en una tarea que resulta complicada.

Referencias

- [1] Irshad H., Automated mitosis detection in histopathology using morphological and multi-channel statistics features., *Journal for Pathology Informatics*, Mayo 2013.
- [2] Salado García J.P., Picón Ruiz A., Bereciartua Pérez A., Irusta Zarandona U., Contaje de mitosis en imágenes histológicas mediante redes neuronales convolucionales., *XXXV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, 2017.
- [3] Albarquoni S., Baur C., Achilles F., Belagiannis V., Demirci S., Navab N., AggNet: Deep Learning From Crowds for Mitosis Detection in Breast Cancer Histology Images., *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2016.
- [4] He K., Zhang X., Ren S., Sun J., ResNet-34 - Deep Residual Learning for Image Recognition. <https://www.kaggle.com/pytorch/resnet34/> (Consultado: Junio de 2018)
- [5] fast.ai - Making neural nets uncool again. <http://www.fast.ai/> (Consultado: Junio de 2018)
- [6] Sako Y., Ludwiczuk B., Benchmark on Deep Learning Frameworks and GPUs. <https://github.com/u39kun/deep-learning-benchmark> (Consultado: Junio de 2018)
- [7] Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016, Introduction. <http://tupac.tue-image.nl/> (Consultado: Junio de 2018)

Experiments in Digital Pathology for Nuclei Detection with a Semantic Segmentation Deep Learning-based approach

A. Pedraza Dorado¹, O. Deniz Suarez¹, G. Bueno Garcia¹

¹ Grupo VISILAB, Universidad de Castilla – La Mancha, Ciudad Real, España,
{Anibal.Pedraza,Oscar.Deniz,Gloria.Bueno}@uclm.es

Abstract

This work approaches the nuclei detection challenge in digital pathology using color transfer and semantic segmentation with deep learning. The dataset that is employed is augmented using rotation and flips, being also enhanced using color variations to represent a wider range of stains as it is usually present in real slides. The number of available slides for this problem starts at 30 and, after applying the exposed techniques, consists on more than 4.600, which is a more suitable amount regarding the technique that is proposed to be applied, since the availability and quality of the sample data is essential to get a successfully trained model. The output from a semantic segmentation is formed by binary masks in which nucleus regions are segmented from tissue regions. However, an ideal segmentation would also identify each singular nucleus, since this information could be used to extract specific features that could benefit the diagnosis. For this reason, a post-processing algorithm based on a watershed segmentation technique is applied over the result from the deep learning model, labelling each segmented nucleus. The results obtained with this approach are measured in terms of the areas that are segmented as nucleus by the model and overlap with the information available in the groundtruth data. The Intersection over Union metric performance obtained is 0.76, while a boundary weighted human-like metric performance is 0.945. Along with the provided and tested approach, further work could be applied to study how to isolate the wrong segmentations.

1. Introduction

Nuclei segmentation is one the most useful fields of image processing to assess cancer grading and treatment effectiveness prediction in digital pathology. It enables feature extraction across heterogenous diseases, such as density, average size or pleomorphism. With the increasing available data, techniques based on Deep Learning, known for their prediction capabilities, can be used.

This is one of the most challenging and studied problems in current digital pathology research. A comprehensive review and comparison of popular techniques to approach this problem is described in [1]. There, the main proposed method is related to raw Fully Convolutional Networks, whose output is reconstructed to a binary map. There, a contour map is also extracted in the same step to handle the segmentation of each individual nucleus in the nuclei region.

Another approach that is being applied to this problem is based on a pixel-wise classification using regular Convolutional Neural Networks, as proposed in [2]. There, a single pixel in the image is classified as being part of a nucleus, a cytoplasm, or tissue background. One of the main drawbacks of this technique is the computation time

needed to have a neural forward pass for each single pixel. Also, it is more difficult for this kind of methods to take advantage from the global image information and structures present in the slide.

Semantic segmentation with deep learning is a common technique for human-like segmentation tasks such as autonomous driving systems, which are specialized in traffic lights, signals and pedestrian detection. However, it has also started to be applied in nuclei segmentation for digital pathology, as reviewed in [3]. That work performs a comparison among some popular semantic segmentation architectures such as PangNet, DeconvNet and FCN, showing the problematic of nuclei differentiation after the interesting region is segmented.

Our proposal relies on a complex and outstanding feature extractor such as the VGG-16 architecture to build our model basis and perform the deep learning workflow.

2. Dataset

The original dataset that was employed was formed by 30 images with the corresponding masks, each one with 1000x1000 pixels size. The masks format was an XML file, so the first step was to transform these files into binary masks to be further used by the algorithms. The available data was related to the following malignancies:

- Breast invasive carcinoma
- Kidney renal clear cell carcinoma
- Kidney renal papillary cell carcinoma
- Lung squamous cell carcinoma
- Lung adenocarcinoma
- Prostate adenocarcinoma
- Bladder urothelial carcinoma
- Colon adenocarcinoma
- Stomach adenocarcinoma

To augment the available data, a process of rotations, mirroring and colour transfer (see below) was applied, increasing the dataset to 4650 images.

2.1. Color transfer

Variability in staining is common in digital pathology images, due to several specific purpose biomarkers and even for different batches using the same biomarker, since it is a chemical process that is performed manually, a problem that is stated and approached in [4].

One the most common techniques to produce more representative data is to synthetically produce images with different tonalities so that the range of colours that is

covered is increased. There are different approaches to apply this procedure, such as the one proposed in [5], where a spectral study is performed to correct the colors in the whole image, being homogeneous for the images in which this is applied. Color space segmentation is also applied in this context, using different representations such as L^*a^*b to extract different and more useful information, as in the method proposed in [6], which is further compared with state-of-the-art techniques such as Reinhard method [7].

Another popular techniques, employed in this work, is the one introduced by Macenko in [8]. There, a reference colour intensity is taken to produce variations to the rest of images, “transferring” this color to them and increasing the number of color variations, covering a wider range of cases. Figure 1 shows an example of how this technique is applied in our dataset.

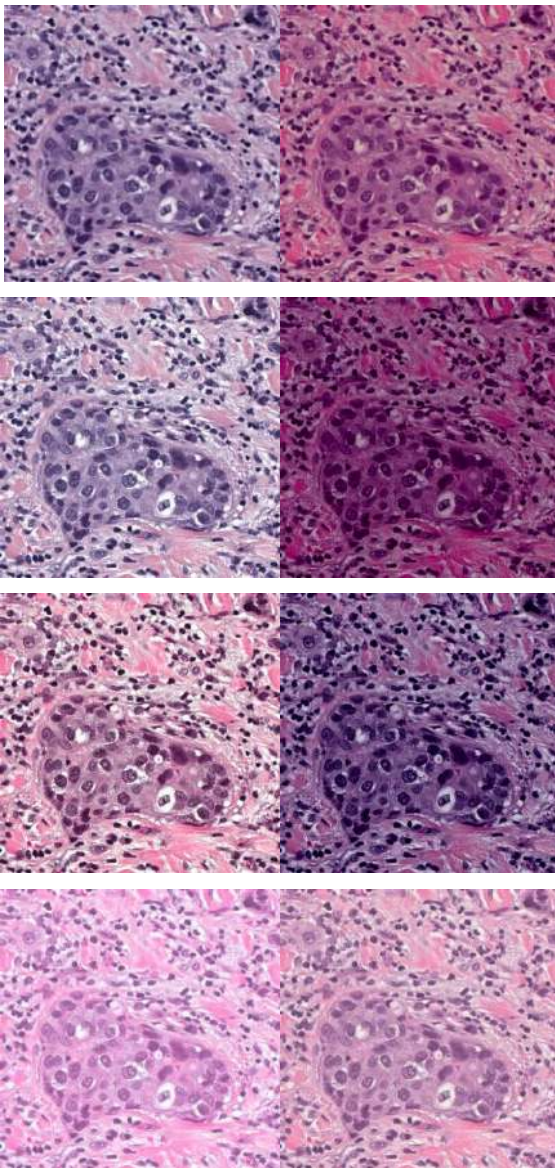


Figure 1. Color transfer examples

3. Semantic Segmentation

With the dataset that was produced in the previous section, a deep learning-based computer vision technique was applied to approach the challenge, called semantic segmentation.

This technique makes use of labelled data in which several categories are distinguished. In this case, these were the categories that are used in this problem:

- Tissue: normal region that could be considered as the regular background in the images
- Nucleus: segmented regions that correspond to the nuclei that we want to segment in the images.

The training process was carried out using a pretrained network from VGG, originally trained for 32 classes, applying transfer learning to retrain the network to the specific classes of this problem.

The network was trained with a NVIDIA Quadro P4000 with 8GB of VRAM, taking 35 minutes to complete the process.

The 75% of the dataset was used for training, which was held during 30 epochs.

4. Post-processing

The masks that are produced using the semantic segmentation are binary region predictions with these classes, so no information about individual nucleus is provided. This has to be extracted using further post-processing of the results. To achieve this, a watershed (introduced in [9]) segmentation algorithm was applied, to split the global regions segmented as nuclei into individual nucleus, to label each one with a different identifier.

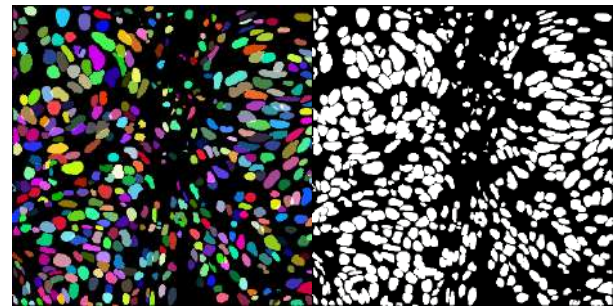


Figure 2. Groundtruth mask (coloured and binary)

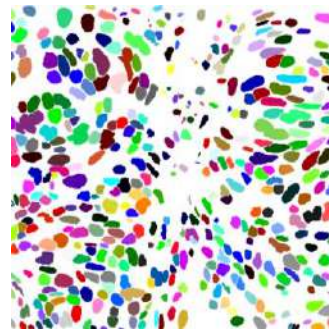


Figure 3. Visualization of predictions

In Figures 2 and 3, both a groundtruth mask and the corresponding predictions are shown. Each color means a

different segmented nucleus after applying the proposed processing.

Note that there are some wrong segmentations, in which two or more nucleus are segmented as a single one. This is shown in Figure 4.

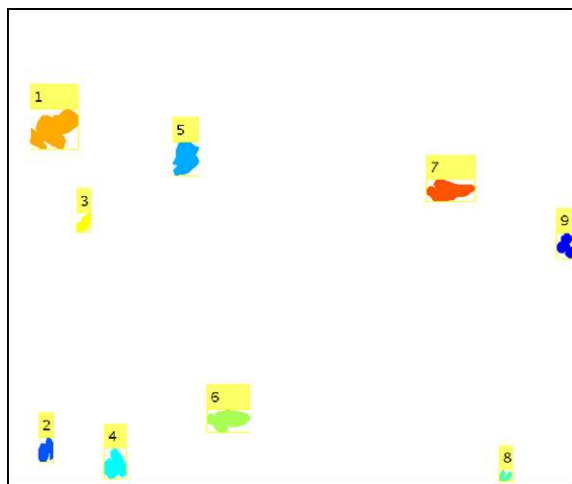
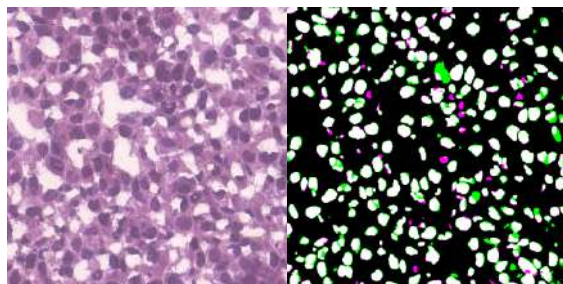


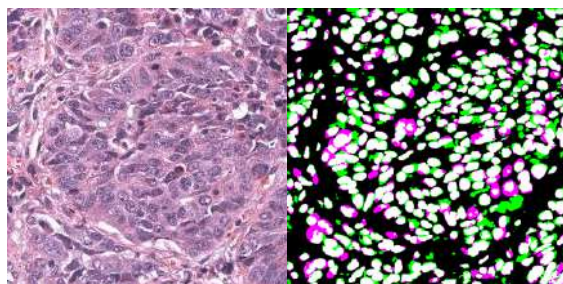
Figure 4. Isolated wrong segmentations

5. Results

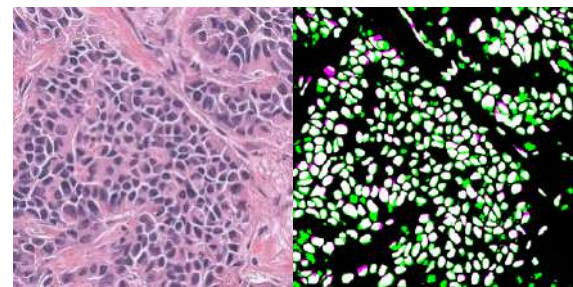
Besides the predicted binary masks that are required for result submission, for the validation dataset these masks are also compared with the groundtruth, in order to check the performance of the method. The following Figures 5-7 are samples for these results. In green the False Positives (wrong nuclei regions predicted) are highlighted, while False Negatives (missing nuclei regions not detected) are shown in magenta.



a) original image b) segmented image
Figure 5. Example of good case



a) original image b) segmented image
Figure 6. Example of bad case



b) original image b) segmented image
Figure 7. Example of average case

The metrics that are employed for performance evaluation are the following:

- Accuracy: indicates the percentage of correctly identified pixels for each class.
- Intersection over Union: also known as the Jaccard similarity coefficient, it is a statistical accuracy measurement that penalizes false positives. Abbreviated as IoU, it calculates the ratio of correctly classified pixels to the total number of ground truth and predicted pixels.
- Boundary F1 Score: it is a contour matching score that indicates how well the predicted boundary of each class aligns with the true boundary. It tends to correlate better with human qualitative assessment than the IoU metric, as described in [10].
- Sensitivity: or recall, is the proportion of true positive pixels in comparison with the actual correctly classified pixels in the image
- Specificity: is the proportion of true negative pixels in comparison with the negative classified pixels in the image

For the validation dataset (25% of the whole dataset), the computed metric results are shown in Table 1.

Metric	Value
Mean accuracy	0.9
Mean IoU	0.76
Mean BF Score	0.945
Mean sensitivity	0.92
Mean specificity	0.885

Table 1. Performance results for test dataset

The model is able to segment regions with a great boundary performance, as pointed by BF score, although the IoU means that the global regions are not so accurately predicted. Moreover, accuracy and sensitivity correlate with a very low missing positive regions, with a trend towards over detection in actual false (tissue) areas.

6. Conclusion

This work contains an introductory review of the main techniques applied in nuclei segmentation, both based on deep learning and classical neural networks. Moreover, the data augmentation step is also applied, with color transfer as a highlighted technique for this kind of problems.

The proposed method is based on the potential of deep learning and semantic segmentation to perform nuclei segmentation in digital pathology. Since characterization of each nucleus is also interesting, further post-processing has been performed to achieve this purpose. This is important to isolate each nucleus and extract individual features that are useful for further steps in the diagnosis workflow.

As a summary of the results, a mean accuracy of 0.9 was obtained, with a higher value in sensitivity rather than specificity and a good performance in human-like segmentation metrics such as the BF Score, reaching a 0.945 value.

In comparison to the methods introduced at the beginning, [1] reaches a 0.861 F1 score, 0.929 precision for [2] and 0.944 accuracy for the ensemble presented in [3]. Taking into account the limited size of the employed dataset, this shows the potential of the method

Regarding future work, a comprehensive study of more complex techniques to split the wrong segmentations could be performed to enhance the proposed method.

References

- [1] Y. Cui, G. Zhang, Z. Liu, Z. Xiong and J. Hu, «A Deep Learning Algorithm for One-step Contour Aware Nuclei Segmentation of Histopathological Images» *arXiv preprint arXiv:1803.02786*, 2018.
- [2] E. F. Braz y R. Alencar Lotufo, «Nuclei Detection Using Deep Learning». XXXV Simposio Brasileiro de Telecomunicacoes e Processamento de Sinais SBrT2017, 2017.
- [3] P. Naylor, M. Laé, F. Reyat and T. Walter, «Nuclei segmentation in histopathology images using deep neural networks» *Biomedical Imaging (ISBI 2017), 2017 IEEE 14th International Symposium on*, 2017.
- [4] Y.-R. Van Eycke, J. Allard, I. Salmon, O. Debeir and C. Decaestecker, «Image processing in digital pathology: an opportunity to solve inter-batch variability of immunohistochemical staining» *Scientific Reports*, vol. 7, p. 42964, 2017.
- [5] P. A. Bautista, N. Hashimoto and Y. Yagi, «Color standardization in whole slide imaging using a color calibration slide» *Journal of pathology informatics*, vol. 5, 2014.
- [6] D. Magee, D. Treanor, D. Crellin, M. Shires, K. Smith, K. Mohee and P. Quirke, «Colour normalisation in digital histopathology images» *Proc Optical Tissue Image analysis in Microscopy, Histopathology and Endoscopy (MICCAI Workshop)*, 2009.
- [7] E. Reinhard, M. Adhikhmin, B. Gooch and P. Shirley, «Color transfer between images» *IEEE Computer graphics and applications*, vol. 21, pp. 34-41, 2001.
- [8] M. Macenko, M. Niethammer, J. S. Marron, D. Borland, J. T. Woosley, X. Guan, C. Schmitt and N. E. Thomas, «A method for normalizing histology slides for quantitative analysis» *Biomedical Imaging: From Nano to Macro, 2009. ISBI'09. IEEE International Symposium on*, 2009.
- [9] F. Meyer, «Topographic distance and watershed lines» *Signal processing*, vol. 38, pp. 113-125, 1994.
- [10] G. Csurka, D. Larlus, F. Perronnin and F. Meylan, «What is a good evaluation measure for semantic segmentation?» *BMVC*, 2013.

Comparación de estrategias de *machine learning* clásico y de *deep learning* para la clasificación automática de estructuras glandulares en imágenes histológicas de próstata

J.G. García-Pardo¹, A. Colomer¹, V. Naranjo¹, M.A. Sales-Maicas² y F.J. García-Morata²

¹Instituto de Investigación e Innovación en Bioingeniería (I3B), Universitat Politècnica de València, España.

²Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario de Valencia, España.

{jogarpa7, adcogra, vnaranjo}@i3b.upv.es

Resumen

El diagnóstico definitivo para el cáncer de próstata reside en un examen visual de las muestras del tejido biopsiado por parte de los patólogos. En este estudio, se propone un sistema automático de clasificación que permite discriminar entre artefactos, muestras benignas y muestras patológicas de grado 3, las cuales son específicas del tejido canceroso en su etapa más temprana. Para abordar la tarea de clasificación multiclase, se implementan técnicas de *machine learning* clásico y de *deep learning*. Con respecto a las primeras, se lleva a cabo una exhaustiva extracción de características atendiendo a descriptores de forma y de textura, a un análisis fractal y a otras características contextuales. Después, se implementa un profundo análisis estadístico para seleccionar las mejores características en términos de independencia entre variables y de dependencia con la clase. Se realiza una rigurosa partición de datos con el objetivo de proporcionar modelos más robustos y resultados más fiables. A continuación, se hace uso de clasificadores de Support Vector Machine (SVM) con un kernel lineal y otro cuadrático y redes neuronales artificiales basadas en el perceptrón multicapa (MLP) con una capa oculta y 15 neuronas. Con respecto a la aproximación de *deep learning*, se emplea la arquitectura VGG19 aplicando técnicas de *fine-tuning* para el entrenamiento de los modelos. El clasificador QSVM consigue los mejores resultados proporcionando una precisión de 0.87 y un área bajo la curva ROC (AUC) de 0.99 y 0.92 en la discriminación de artefactos - glándulas y glándulas benignas - glándulas patológicas, respectivamente.

1. Introducción

El cáncer de próstata es uno de los tipos de cáncer más frecuentemente diagnosticados en la actualidad, ya que presenta una incidencia y una prevalencia a 5 años muy elevada [1]. Para su diagnóstico, los patólogos deben llevar a cabo, en última instancia, un análisis de las muestras del tejido biopsiado para determinar la presencia del cáncer, así como la gravedad del mismo. Hoy en día, dicho análisis consiste en una tarea manual muy tediosa y poco optimizada, en términos de coste-efectividad, que lleva asociado un alto nivel de subjetividad cuando los patólogos intentan clasificar una determinada muestra de acuerdo al sistema de puntuación de *Gleason* [2].

En el estado del arte se han desarrollado diversos estudios, como los publicados en [3], [4], que proponen sistemas de ayuda al diagnóstico para optimizar la tarea de los patólogos y reducir el ratio de discordancia a la hora de analizar las imágenes histopatológicas relativas a

las muestras del tejido biopsiado. Siguiendo la estrategia propuesta por los estudios referenciados, en este trabajo también se realiza una segmentación inicial de todas las posibles estructuras glandulares que aparecen en las imágenes. En la Figura 1 se exponen ejemplos de artefactos y de unidades de glándula benignas y patológicas, identificando los componentes principales de las mismas.

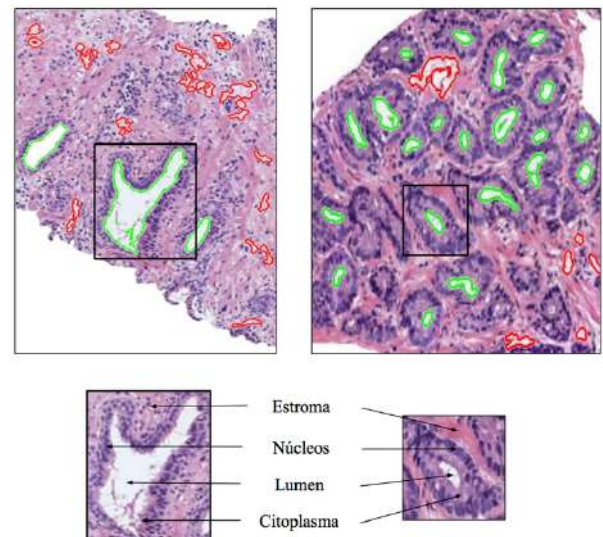


Figura 1. Ejemplos de artefactos (en rojo), de lúmenes de glándulas (en verde), tanto benignas como patológicas, y de estructuras glandulares con sus principales componentes.

Todos los “objetos” de la figura anterior, señalados en verde y en rojo, son considerados posibles lúmenes de glándulas. La segmentación inicial se lleva a cabo a partir de cada uno de ellos con el objetivo de extraer características que faciliten el entrenamiento de los modelos de clasificación para discriminar entre artefactos, glándulas benignas y glándulas patológicas de grado 3.

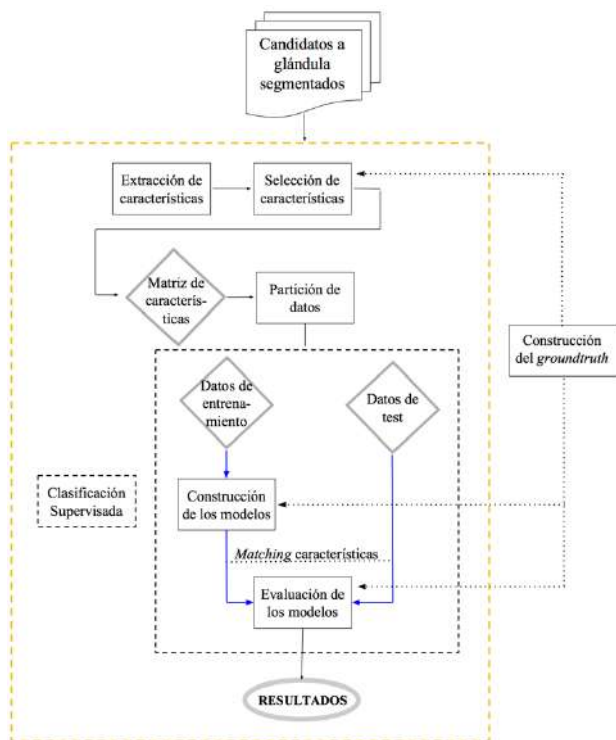
El método de segmentación propuesto en este trabajo se basa en la técnica “*Locally Constrained Watershed Transform*” (LCWT) que permite llevar a cabo una segmentación alrededor de una región delimitada por una frontera discontinua [5]. En este caso, se implementa la técnica LCWT para segmentar las unidades de glándulas delimitadas por los núcleos epiteliales que las rodean, ya que estos se disponen alrededor de las estructuras glandulares conformando una frontera abierta.

2. Metodología

2.1. Material

En este trabajo se ha hecho uso de una base de datos privada, procedente del Hospital Clínico Universitario de Valencia, compuesta por 1.468 imágenes histopatológicas caracterizadas por presentar un aumento de 10x y unas dimensiones de 1024x1024x3 píxeles. Dichas imágenes provienen de un total de 25 pacientes diferentes que aportan al estudio una alta variabilidad en términos de forma y tamaño de glándulas, así como de color y nitidez en la tinción correspondiente a la Hematoxilina y Eosina (H&E). Finalmente, se obtienen 3.200 artefactos, 3.195 glándulas benignas y 3.000 glándulas patológicas como material de partida para implementar las técnicas de clasificación basadas en *machine learning* clásico y en *deep learning*.

2.2. Diagrama de flujo



El diagrama expuesto corresponde a la aproximación basada en *machine learning* clásico. No obstante, el diagrama de *deep learning* sigue una estrategia muy similar, aunque presenta dos diferencias sustanciales, ya que, por un lado, no requiere de las etapas de extracción y selección de características y, por otra parte, la partición de datos se lleva a cabo directamente a partir de la segmentación de los candidatos a glándula, separando las imágenes en tres subconjuntos relativos al entrenamiento, a la validación y al test.

2.3. Extracción de características

El objetivo en esta etapa es identificar patrones característicos en las imágenes de las glándulas individuales que permitan entrenar modelos de clasificación capaces de aprender qué valores de qué características se asocian a una clase o a otra.

En el estado del arte se encuentran estudios, como el realizado en [4], que hacen uso de descriptores de forma y de textura para llevar a cabo la tarea de clasificación, mientras que otros, como el publicado en [3], utilizan características relacionadas con la información del entorno de las glándulas. Siguiendo la literatura científica, en este artículo se implementan, de forma novedosa, descriptores de forma y de textura, en combinación con un análisis fractal similar al propuesto en [6] y una serie de características contextuales, como en [3]. Con respecto a los descriptores de forma, se extraen características relacionadas, por un lado, con la geometría y el contorno de las glándulas, como el área y el perímetro; y, por otro lado, con las configuraciones estructurales invariantes a las transformaciones, como por ejemplo la compacidad y la suavidad. También se tienen en cuenta la densidad de los núcleos y la cantidad de píxeles correspondientes al citoplasma que presenta cada unidad de glándula, entre otras. En cuanto a los descriptores de textura, se aplican la matriz de coocurrencia (GLCM) y los *Local Binary Pattern* (LBP) sobre los canales de color: cian, hematoxilina y eosina, donde el primero de ellos se obtiene a partir de la transformación del espacio de color RGB al CMYK; y el segundo, a partir del uso del método conocido como “deconvolución de color” [7] que permite separar las contribuciones de la tinción H&E. De la GLCM se obtienen métricas relativas a la distribución espacial de los niveles de grises en la textura de la imagen, como por ejemplo el contraste, la energía, la homogeneidad, etc. Por otro lado, se usan los histogramas de los LBP uniformemente invariantes a la rotación ($LBP_{P,R}^{riu2}$) [8] y los invariantes a los cambios de contraste ($VAR_{P,R}$) [9] para obtener características relacionadas con las texturas de la imagen a nivel local (véase la Figura 2).

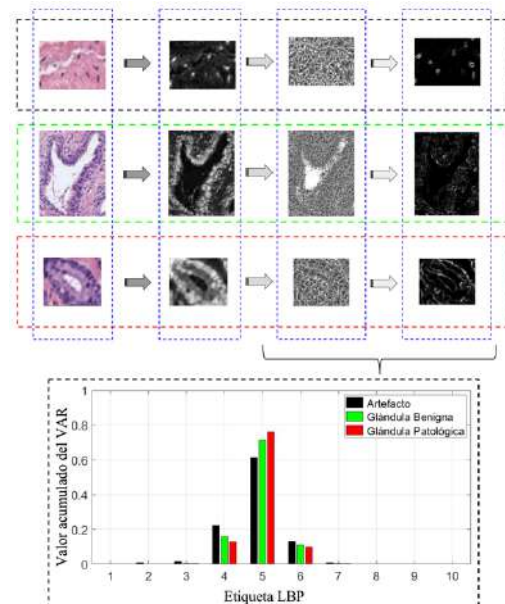


Figura 2. Comparación de los histogramas normalizados que proporciona la combinación de las imágenes LBP y VAR, a partir del canal cian para un artefacto, una glándula benigna y una patológica, en negro, verde y rojo, respectivamente.

Con respecto al análisis fractal, se hace uso del exponente de *Hurst*, en varias direcciones, que permite medir la

complejidad o tortuosidad que presenta el tejido de las imágenes. Cabe destacar que también se aplica sobre los tres canales de color mencionados anteriormente. Por último, se extraen características contextuales, como la distancia media del centro de la glándula a cada núcleo del borde, con el objetivo de tener en cuenta la información asociada a determinadas relaciones de distancias, proporciones y formas existentes entre la unidad glandular y su alrededor.

2.4. Selección de características

La finalidad de esta fase consiste en implementar un exhaustivo análisis estadístico para seleccionar, de las 297 características extraídas, únicamente aquellas que presentan una información relevante para asegurar la capacidad discriminativa de las variables usadas en los modelos automáticos y la independencia entre ellas. En primer lugar, se realiza el test de *Kolmogorov-Smirnov* para analizar si la variable bajo estudio sigue una distribución normal de media $\mu = 0$ y desviación típica $\sigma = 1$, o no. (Véase la Figura 3).

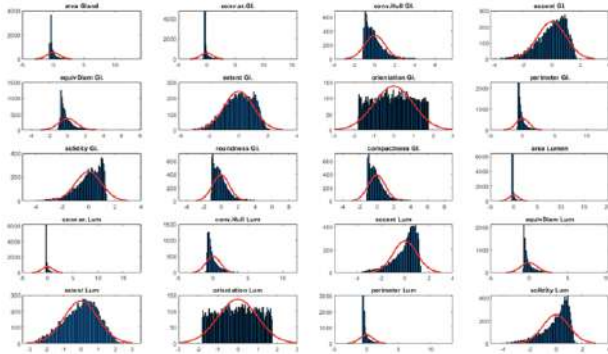


Figura 3. Distribución de las primeras 20 variables del estudio superpuestas con la Campana de Gauss (en rojo) que caracteriza una distribución $N(0,1)$.

En función del resultado del análisis anterior, se lleva a cabo, bien una comparación de medias haciendo uso del test ANOVA (*ANalysis Of VAriance*), o bien una comparación de medianas utilizando el método de *Kruskal-Wallis*. De este modo, se determina el poder discriminativo de las variables atendiendo al nivel de independencia con respecto a la clase (véase la Figura 4).

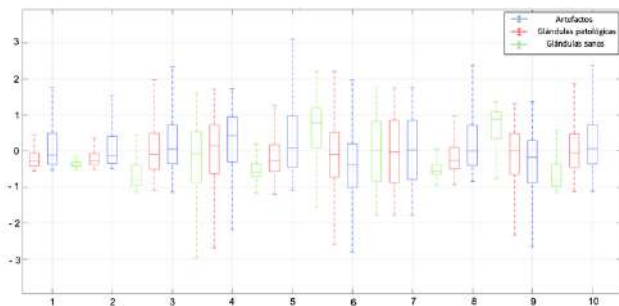


Figura 4. Diagrama de caja y bigotes que muestra el nivel de independencia de diez variables con respecto a la clase.

Por otra parte, se calcula la independencia entre pares de variables mediante el coeficiente de correlación (r) para descartar aquellas características que presentan un p -valor $< 0,0001$ y un $|r| > 0,95$ (véase la Figura 5).

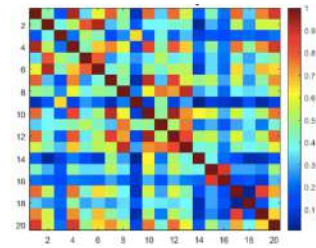


Figura 5. Matriz de correlación para las 20 primeras características donde se observa el nivel de independencia entre pares de variables.

De esta forma, se eliminan del estudio las características que únicamente aportan información redundante, obteniendo finalmente, un total de 134 variables tras el proceso de selección de características.

2.5. Partición de datos

Con el objetivo de proporcionar modelos automáticos robustos y resultados fiables, se implementan en esta fase, técnicas de *k-fold cross validation* (validación cruzada) internas y externas tanto para la aproximación basada en *machine learning* clásico como para la de *deep learning*. (Véase la Figura 6). Cabe destacar que la partición de datos no se lleva a cabo de forma meramente aleatoria, sino que se establece una rigurosa estrategia para que cada subconjunto disponga de una cantidad similar de elementos correspondientes a cada una de las tres clases. Además, por lo que respecta al conocimiento del autor, este artículo es el primero que realiza una partición de datos tal que, las glándulas correspondientes a un determinado paciente se establecen siempre en el mismo conjunto de datos. De esta forma, en cada iteración, todas las muestras pertenecientes a un mismo historial clínico únicamente pueden ser utilizadas para entrenar o para testear los modelos, nunca para ambas tareas.

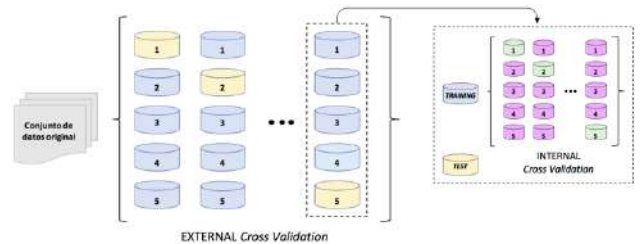


Figura 6. Partición de datos basada en técnicas de validación cruzada externa e interna con $k = 5$ folds.

2.6. Clasificación supervisada

En cuanto a la aproximación de *machine learning* clásico, se aborda la tarea de clasificación desde una perspectiva lineal y otra no lineal utilizando clasificadores de *Support Vector Machine* con un *kernel* lineal y otro cuadrático, así como redes neuronales artificiales basadas en el perceptrón multicapa (MLP) con una capa oculta y 15 neuronas. Los modelos SVM se basan en clasificadores binarios no paramétricos que pretenden hallar un “hiperplano óptimo” que separe en dos regiones el espacio muestral, siendo el hiperplano óptimo aquel que se genera cuando la distancia entre los dos puntos más cercanos de cada clase al hiperplano es máxima [10]. Por otra parte, los modelos de MLP se caracterizan por ser

clasificadores adaptativos, distribuidos y paralelos cuyo funcionamiento se basa en un conjunto de regresiones logísticas donde la salida es la entrada de la siguiente, con el fin de minimizar una función objetivo en términos de error cuadrático medio. Con respecto a la aproximación relativa al *deep learning*, se ha hecho uso de una de las arquitecturas más populares en el estado del arte llamada “*Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition*” (VGG19) [11] que fue entrenada con el conjunto de datos de *ImageNet*. Esta arquitectura proporciona unos pesos pre-entrenados a partir de imágenes naturales que permiten hacer uso de la técnica de transferencia de conocimiento llamada “*fine-tuning*”. Dicha técnica consiste en inicializar las primeras capas de la red con los pesos pre-entrenados y utilizar las últimas capas para entrenar los modelos con la información específica de las imágenes histopatológicas usadas en este trabajo. Cabe destacar que como entorno de desarrollo se ha empleado *Keras* con *Tensorflow* como *backend* [12].

3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se exponen los resultados obtenidos con las estrategias de *machine learning* clásico, a la hora de discriminar entre artefactos y glándulas, y entre glándulas benignas y patológicas. Como se puede observar, el clasificador QSVM presenta los mejores resultados para las figuras de mérito seleccionadas. Por ello, en la Tabla 2, se realiza una comparación de dichos resultados con los obtenidos a partir de las estrategias de *deep learning*.

	LSVM		QSVM		MLP	
	Artefactos Vs Glándulas	G. Benignas Vs G. Patológicas	Artefactos Vs Glándulas	G. Benignas Vs G. Patológicas	Artefactos Vs Glándulas	G. Benignas Vs G. Patológicas
Sensibilidad	0.927 ± 0.012	0.818 ± 0.051	0.937 ± 0.001	0.794 ± 0.045	0.936 ± 0.017	0.768 ± 0.100
Especificidad	0.960 ± 0.021	0.848 ± 0.090	0.954 ± 0.023	0.865 ± 0.083	0.953 ± 0.031	0.817 ± 0.092
VPP	0.922 ± 0.042	0.844 ± 0.093	0.913 ± 0.052	0.853 ± 0.088	0.912 ± 0.056	0.809 ± 0.084
VPN	0.960 ± 0.012	0.825 ± 0.069	0.964 ± 0.012	0.811 ± 0.053	0.964 ± 0.012	0.790 ± 0.058
Accuracy	0.863 ± 0.030	0.863 ± 0.030	0.865 ± 0.024	0.865 ± 0.024	0.843 ± 0.023	0.843 ± 0.023
F-Score	0.924 ± 0.025	0.826 ± 0.027	0.924 ± 0.027	0.818 ± 0.026	0.923 ± 0.034	0.781 ± 0.045
AUC	0.985 ± 0.006	0.925 ± 0.034	0.986 ± 0.008	0.923 ± 0.037	0.988 ± 0.009	0.902 ± 0.033

Tabla 1. Resultados de la clasificación obtenidos en base a los tres clasificadores empleados de *machine learning* clásico.

	Artefactos Vs. Glándulas		Glándulas Benignas Vs. Patológicas	
	QSVM	VGG19	QSVM	VGG19
Sensibilidad	0.937 ± 0.001	0.900 ± 0.020	0.794 ± 0.045	0.747 ± 0.109
Especificidad	0.954 ± 0.023	0.938 ± 0.026	0.865 ± 0.083	0.780 ± 0.123
VPP	0.913 ± 0.052	0.884 ± 0.059	0.853 ± 0.088	0.779 ± 0.101
VPN	0.964 ± 0.012	0.945 ± 0.016	0.811 ± 0.053	0.769 ± 0.047
Accuracy	0.865 ± 0.024	0.812 ± 0.032	0.865 ± 0.024	0.812 ± 0.033
F-Score	0.924 ± 0.027	0.891 ± 0.033	0.818 ± 0.026	0.753 ± 0.058
AUC	0.986 ± 0.008	0.974 ± 0.010	0.923 ± 0.037	0.889 ± 0.036

Tabla 2. Comparación de resultados obtenidos a partir de las aproximaciones de *machine learning* clásico y de *deep learning*.

Resulta llamativo que los resultados conseguidos con las estrategias de *machine learning* clásico sean superiores a los proporcionados por las técnicas de *deep learning*, ya que los modelos basados en ejemplos suelen reportar mejores resultados que los basados en características. Este hecho podría deberse a que el número de imágenes específicas usadas en la CNN es demasiado pequeño para que pueda darse un buen aprendizaje de los modelos.

4. Conclusiones y líneas futuras

En este artículo se ha propuesto una estrategia para la extracción y selección de características a partir de las glándulas segmentadas de las muestras histológicas de próstata. Se ha planteado un estudio de clasificación realizando una rigurosa partición de datos y utilizando modelos basados en *machine learning* clásico y en *deep learning*. En líneas futuras se empleará una mayor cantidad de imágenes específicas y se implementarán otras arquitecturas de CNN propuestas por el estado del arte, tales como *Microsoft ResNet*, *GoogLeNet* y *Xception*, entre otras. Los resultados serán comparados con otras arquitecturas que serán diseñadas y desarrolladas por los propios autores.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad bajo el proyecto SICAP (DPI2016-77869-C2- 1-R). Se agradece el apoyo de NVIDIA por su donación de la GPU Titan XP empleada en este trabajo.

Referencias

- [1] Página web de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). <https://www.seom.org/es/noticias/106525-las-cifras-del-cancer-en-espana-2018>. (Consultada: Junio 2018).
- [2] Gleason DF. Histological grading and clinical staging of prostatic carcinoma. *Urol. Pathol. Prost.* vol. 171, 1977.
- [3] Nguyen K, Sarkar A, Jain AK. Structure and Context in Prostatic Gland Segmentation and Classification. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012, pp. 115–123.
- [4] Kwak JT, Hewitt SM. Multiview boosting digital pathology analysis of prostate cancer. *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 142, pp. 91–99, 2017.
- [5] Beare R. A locally constrained watershed transform. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 28, no. 7, pp. 1063–1074, 2006.
- [6] Tabesh A et al. Multifeature Prostate Cancer Diagnosis and Gleason Grading of Histological Images. *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 26, no. 10, pp. 1366–1378, 2007.
- [7] Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution,” *Anal Quant Cytol Histol*, vol. 23, pp. 291–299, 2001.
- [8] Ojala T, Pietikainen M, Maenpaa T. Multiresolution gray-scale and rotation invariant texture classification with local binary patterns,” *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, vol. 24, no. 7, pp. 971–987, 2002.
- [9] Guo Z, Zhang L, Zhang D. A Completed Modeling of Local Binary Pattern Operator for Texture Classification,” *IEEE Trans. Image Process.*, vol. 19, no. 6, pp. 1657–1663, 2010.
- [10] Jordan M, Kleinberg J, Schölkopf B. Pattern Recognition and Machine Learning.
- [11] Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton GE. ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks. pp. 1097–1105, 2012.
- [12] Chollet F, Keras 2015. Página web: <https://keras.io/>. (Consultada: Septiembre 2018).

Sclerotic Glomerulus detection in kidney Whole Slide Images based on 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,

{Jaime.Gallego, Oscar.Deniz, Gloria.Bueno}@uclm.es

² Warsaw University of Technology, Faculty of Electrical Engineering, Warsaw, Poland, swidersz@ee.pw.edu.pl

Abstract

Glomerular analysis is a key process in nephropathology to detect kidney disorders. Different diseases like diabetes, VIH, or hepatitis, among others, present symptoms in the kidney glomerular structure that can be studied to make a correct prognosis of the illness. Glomerular sclerosis is one of the most significant Glomerular pathologies. It appears when the Glomerulus blood filtering capability is highly compromised and medical actions are required.

In this paper, we present a new deep learning-based approach that first, detects and segments the Glomeruli present in the scanned Whole Slide Images (WSI). In a second step, the detected Glomeruli are classified to detect the sclerotic ones. A dataset composed of 47 WSIs belonging to human kidney sections stained with PAS was used. We propose to apply two different Convolutional Neural Networks (CNNs) where first we use the U-Net model to achieve the pixel-wise segmentation of Glomerular regions and next, we use the segmented regions to perform a CNN classification between sclerotic, non-sclerotic Glomerulus and non-Glomerulus by using a fine-tuned AlexNet model. The results show the suitability of this CNN-based approach to detect the sclerotic and non-sclerotic Glomeruli in the WSIs.

1. Introduction

Digital Pathology is the image processing field focused on the automation and improvement of traditional medical pathology processes. This trend is becoming a necessary tool for the pathologists to perform a fast and robust diagnosis from high-resolution images or, in some cases, to completely automate quantitative evaluations. Bueno et al. give a general survey of digital pathology trends in [1].

The revolution of deep learning techniques is nowadays enhancing the possibilities of the digital pathology processes. These machine learning methods based on Neural Networks, such as Convolutional Neural Networks (CNNs), are enhancing Virtual Slides (VS) analysis, giving promising results in classification and detection of regions and structures present in the tissue sections. CNNs allows a simple configuration thanks to its automatic feature extraction capabilities but needs huge amount of data and computational power to correctly train the networks.

In our research, we focus on digital pathology applied to nephropatology, with the objective to detect Glomeruli in

kidney tissue WSIs and classify them into sclerotic and non-sclerotic.

The Glomeruli are networks of capillaries that serve as the first stage in the filtering process of the blood that retains higher molecular weight proteins in blood circulation in the formation of urine. Its detection and classification into sclerotic and non-sclerotic is central in nephropathology to get a correct medical diagnosis of the patients and proceed with the best treatment.

1.1. Previous work

Many authors have been working on Glomerulus segmentation, detection and/or classification. In [2], the authors use Rectangular-Histogram of Gradients (R-HOG) as feature vector to classify Glomeruli. The main problem of such techniques is the fact that R-HOG has rigid block division that results into a significant number of false positives. To improve the R-HOG, Kato *et al.* [3] presented the Segmental HOG (S-HOG) as a characteristic vector for Glomerulus classification where the block division is not rigid and uses Support Vector Machine (SVM) as a supervised learning classifier. In [4], the authors propose an approach for Glomeruli detection based on the ellipse shape of Glomeruli to obtain candidate regions. These regions are classified in a final step with a trained SVM classifier. Temerinac-Ott *et al.* [5] evaluated the detection of glomerular structures in WSIs stained with multiple staining using HOG feature classifier and CNN with a specific model. They demonstrated that HOG features perform between 10% and 20% worse than the CNN detector. Gallego, Pedrosa *et al.* in [6,7] proposed a method for Glomerulus classification and detection based on CNN classification between Glomerulus and non-Glomerulus regions that applies the classifier in a sliding window on the WSI to get the final detection with a f-measure value of 93.7%. Gadermayr *et al.* [8] dealt with Glomerulus detection and segmentation using CNN cascades where a network is first used to detect regions of interest, and then a U-Net network is applied to achieve the Glomerulus segmentation. Finally, Barros *et al.* in [9] presented a computational system designed to assist pathologists in detecting nephrological lesions in digital images of kidneys which uses classical image processing and pattern recognition methods to detect proliferative glomerular lesions with an accuracy of 88.3%.

In this paper, we propose a method to detect and segment Glomeruli in kidney WSIs and classify them into sclerotic, non-sclerotic Glomeruli, which represents a step forward towards automatic pathology detection. The proposal is based on Deep learning CNNs. We use an initial step using U-Net model to detect and segment the glomerular regions in the WSIs under analysis, and a second classification step based on AlexNet architecture to classify the segmented patches into sclerotic Glomerulus, non-sclerotic Glomerulus and non-Glomerulus.

The results show an accuracy of 95.35% in segmentation, and an accuracy of 99.89% in sclerotic and non-sclerotic classification.

The remainder of the paper is organized as follows: The description of the database used in our experiments is given in Section 2. Section 3 describes the method used to detect and segment the Glomeruli. Glomeruli classification between sclerotic and non-sclerotic is described in Section 4. Finally, results and conclusions are presented in Section 5 and Section 6 respectively.

2. Materials

This study involved digital slides from the AIDPATH kidney database [10]. It is composed of human kidney tissue cohorts from four different institutions and pathology labs around Europe, including Spain, Germany, Italy and Lithuania. The dataset is made of samples extracted by expert pathologists, from incisional biopsies, with the objective to detect potential renal pathologies. It comprises a collection of 47 WSIs. PAS stain is used in this study since it is helpful to identify Glomerular pathological disorders in which weakness or improper functioning of basal membranes are present. Extracted Glomeruli diameters range between 100 μm and 350 μm .

The slides were prepared serially, using Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) tissue sections with 4 μm of thickness. They were obtained 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. 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. Depending on the section fixed on the slide, digital slides range between 0.5GB to 2GB.

2.2. Database creation

Each WSI was reviewed by expert pathologists to generate the ground truth annotations for PAS Glomeruli localization areas. They were also annotated as sclerotic and non-sclerotic. The process of labelling was performed manually using the Aperio ImageScope tool. As a result, the coordinates of the different Glomerulus detected by the pathologists were available, so that the Glomerulus patches could be cropped from the images. Following this process, 1,316 Glomeruli structures were annotated, of which 330 Glomeruli are sclerotic and 986 Glomeruli are

non-sclerotic. As shown in **Figure 1a and 1b**, the Glomeruli samples present high variability in terms of shape, size and texture.

The annotations were used to train both the AlexNet and the U-Net models. Each model requires specific type of training data:

- AlexNet model database. We use three classes to train the classifier: sclerotic Glomerulus, non-sclerotic Glomerulus and non-Glomerulus. Sclerotic Glomerulus and non-sclerotic Glomerulus are trained directly with the blocks extracted from the annotations. The non-Glomerulus class is used to detect errors in the U-Net segmentation process and it is trained with 3,000 non-Glomerular regions extracted from the WSIs. The blocks of the 3 classes are resized to 227x227 pixels in order to feed the CNN. **Figure 1** shows some examples of the annotated blocks for each of the classes.

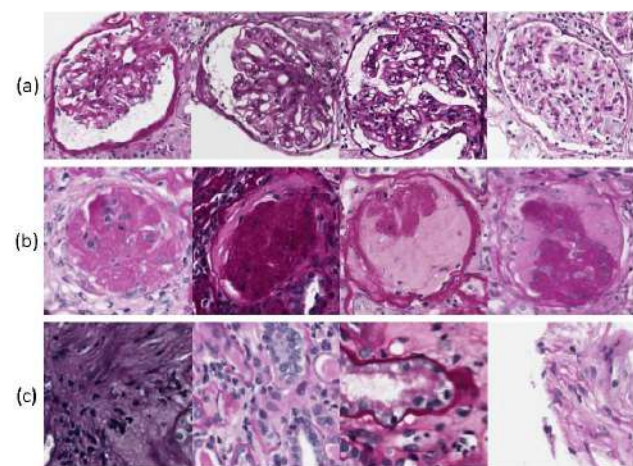


Figure 1 Example of annotations for non-sclerotic Glomeruli (a), sclerotic Glomeruli (b) and non-Glomeruli (c).

- U-Net model database. Annotated Glomerulus and their surrounding areas are extracted in blocks of 500x500 pixels with the Glomerulus under analysis located in the patch. A mask is created for each block where Glomerular pixels are masked to “1” and background regions are masked to “0”. Since we want to segment both sclerotic and non-sclerotic Glomeruli, we processed both subsets together. **Figure 2** shows an example of the blocks used in the training.

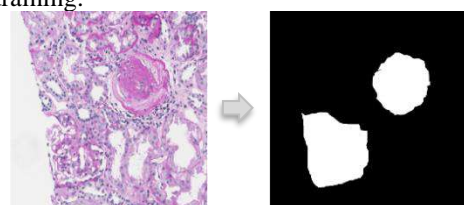


Figure 2 Example of blocks used to train the U-Net model. On the left, patch extracted from the kidney WSI. Manual mask of the Glomeruli, on the right.

Finally, analogously to [7], augmentation procedures were 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: colour modification, 90° rotation and flip up. Colour

modification (also known as colour transfer) has been performed with Reinhard's method [11]. For each staining, we use four colour patterns corresponding to the different sites or institutions from where the databases come from.

3. Method

We propose a system to obtain the Glomeruli segmentation and classification into sclerotic and non-sclerotic classes by using a cascade of two Deep Learning CNNs. The proposal follows a three-step work-flow:

- 1) Patch extraction from the PAS stained specimens.
- 2) Glomeruli segmentation using CNN U-Net.
- 3) Segmented regions classification into sclerotic Glomerulus, non-sclerotic Glomerulus and non-Glomerulus by means of the AlexNet CNN.

Both networks were trained with the manually annotated database (see Materials section). The workflow of this method is depicted in **Figure 3**.

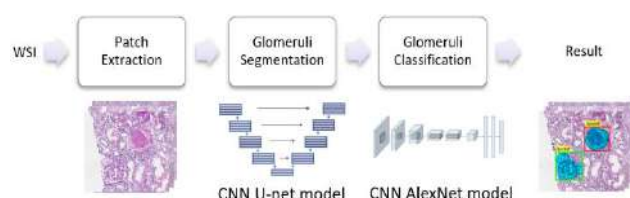


Figure 3 Workflow of the system.

3.1. Patch extraction

The extraction of the blocks from the PAS stained WSIs is the first step of the process before starting the CNN U-Net segmentation. Since we need to split the tissue inside WSI into 500x500 blocks, we first apply a tissue segmentation, analogously to [7]. It allows to limit the region under analysis, thus reducing the computational time. A background segmentation based on colour histogram analysis is done to detect the WSI tissue regions. After that, we split the tissue into 500x500 image blocks to feed the U-Net.

3.2. Glomeruli segmentation based on CNN U-Net

We use U-Net architecture to obtain the Glomeruli segmentation inside the patches. This CNN achieves a fast and precise object segmentation in many semantic segmentation tasks, including rats Glomeruli segmentation [8]. The application of the U-Net network allows to achieve a correct Glomerulus separation and border detection.

The U-Net architecture was introduced by Ronneberger et al. in [12]. It is based on a contracting path to capture the context and a symmetric expanding path that enables a precise localization. As a result, the expansive path is symmetric to the contracting path and gives a final u-shaped architecture (see **Figure 3**). We add dropout layers to the U-Net architecture to prevent neural network from the overfitting. This approach is useful in the case of limited number of training data. We applied the dropout factor equal to 0.25, which means that 25% of neurons are randomly dropped out.

The model was trained with stochastic Gradient Descent optimizer (SGD), learning rate parameter equal to 0.05, binary-cross entropy loss function and it was monitored by the dice coefficient metric. The training set parameters were adjusted according to the available literature [8]. The network was trained with the training dataset described in the Materials section. The resultant segmented regions are extracted in bounding boxes containing each region for its posterior classification.

3.3. Glomeruli classification based on CNN AlexNet

After the segmentation process, we propose to classify each segmented region into three classes: sclerotic Glomerulus, non-sclerotic Glomerulus and non-Glomerulus. As mentioned before, the last class is added to detect possible false positive segmentations.

The CNN was set up using the AlexNet architecture [13]. This CNN has eight layers of neurons: five convolutional and three fully-connected. We choose this model since it has been shown to provide correct results in the literature [6,7]. In order to train the network, we apply the fine-tuning (FT) technique. Hence, we adapted the model to our training data with only few epochs/iterations by modifying the network weights and by trimming the number of outputs in the last layer.

During training, the learning rate is started with an initial value of 0.001, decreasing it with drop factor of 0.1 with a period of eight. For back propagation, the Stochastic Gradient Descent was used, establishing 0.004 for L2-Regularization. We use 10 epochs, which proved to be enough to get the best accuracy results. The training data used for AlexNet CNN are explained in the Materials section.

Once the model has been trained, the classification of each U-Net segmented block is performed. These classification results were included in the resultant WSI where each segmented region is highlighted with the classification result.

4. Results

We performed a complete evaluation of the proposed study for automatic WSI PAS Glomeruli segmentation and classification. The goal of medical doctors is to detect the proportion of non-sclerotic versus sclerotic Glomeruli. The proposed method allows to detect how many Glomeruli are in the WSI, and how many are sclerotic and non-sclerotic. ¡Error! No se encuentra el origen de la referencia., shows some qualitative results of this automatic Glomeruli segmentation and classification. The segmentations obtained by the U-Net CNN are highlighted in blue. As can be observed, the Glomeruli segmentation present exact and correct contours, although some miss segmentations can appear due to the high variability of the Glomeruli (**Figure 4c**).

With regards to the AlexNet classification, we can observe the non-sclerotic Glomeruli squared in green colour, in red colour are the segmentations detected as sclerotic Glomeruli and, surrounded by black colour, the detections classified as non-Glomerulus. **Figure 4d** depicts an example of the former class.

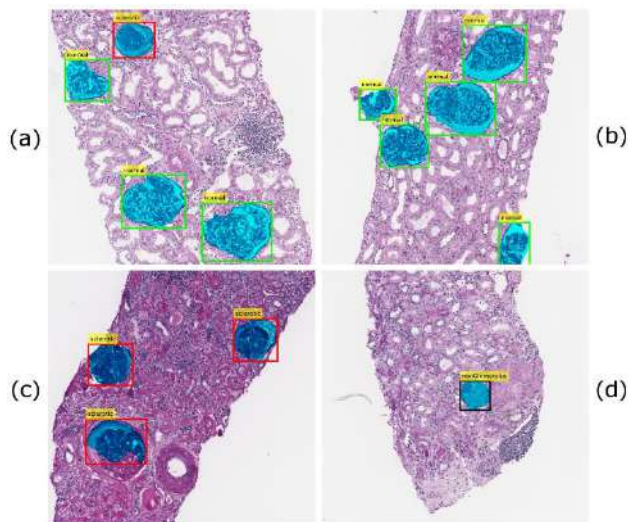


Figure 4 Results of the proposed method. Segmented regions obtained by U-Net CNN are highlighted in blue colour. Green bounding boxes denote non-sclerotic Glomeruli, red bounding boxes surround sclerotic Glomeruli and Black boxes indicate non-Glomerulus classification.

The, U-Net segmentation had an accuracy of 95.35%, while the AlexNet classification gave an accuracy of 99.89% using 10-fold cross validation.

Figure 5 shows some miss segmentations that can lead to a wrong Glomeruli classification. In this case, we can observe that 2 sclerotic Glomeruli have been classified as non-Glomerulus due to the poor U-Net segmentation. We consider that improving the database with more samples and more variability will solve these errors, thus reducing miss segmentations.

Finally, with regards to the computational cost of all the processes involved, we trained the models using a GPU NVIDIA GTX 960 Ti with 6 GB of VRAM. The U-Net training took around 6.5 hours, whereas the AlexNet training in fine-tuning mode took 4.3 hours to perform the 10-fold cross validation.

5. Conclusions

In this paper, we have presented a method to segment and classify Glomeruli in Kidney PAS WSIs. It is based on a cascade combination of two CNNs: First, U-Net is used to segment the Glomeruli present in the WSI. Next, we use AlexNet CNN to correctly classify the obtained segmentations into sclerotic Glomerulus, non-sclerotic Glomerulus and non-Glomerulus. We decided to use this cascade combination of CNNs to achieve the classification of the Glomeruli instead of using directly a multi-class U-Net segmentation for sclerotic and non-sclerotic Glomeruli. The main reason was that multi-class U-Net segmentation lead to a high confusion between classes, even into the same Glomerulus segmentation, which complicated the correct Glomeruli classification.

The results confirm that this technique can be used to correctly segment and classify the Glomeruli present in PAS kidney slides, thus assisting medical doctors in the pathology tasks. We consider that this proposal supposes

a step further to automatic pathological diagnosis through the detection of several kidney diseases.

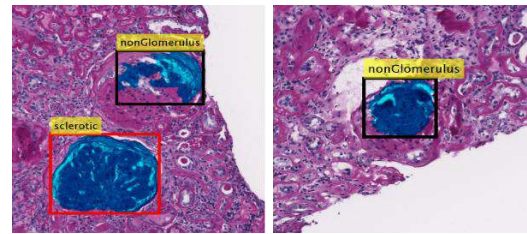


Figure 5 Examples of wrongly segmented Glomeruli classified as nonGlomerulus.

Acknowledgements

This work is partially founded by the EU FP7 Program, AIDPATH project, grant 612471, and the NSC (Poland) grant UMO-2016/23/N/ST6/02076.

References

- [1] G. Bueno, M. Fernandez-Carroles, O. Deniz, M. Garcia Rojo, New trends of emerging technologies in digital pathology, *Pathobiology* 83,2016, 61-69
- [2] Hirohashi, Y.; Relator, R.; Kakimoto, T.; Saito, R.; Horai, Y.; Fukunari, A.; Kato, T. Automated quantitative image analysis of glomerular desmin immunostaining as a sensitive injury marker in spontaneously diabetic torii rats. *J. Biomed. Image Process.* 2014, 1, 20–28.
- [3] Kato, T.; Relator, R.; Ngouv, H.; Hirohashi, Y.; Takaki, O.; Kakimoto, T.; Okada, K. Segmental HOG: New descriptor for glomerulus detection in kidney microscopy image. *BMC Bioinform.* 2015, 16, 316.
- [4] Marée, R.; Dallongeville, S.; Olivo-Marin, J.C.; Meas-Yedid, V. An approach for detection of glomeruli in multisite digital pathology. In *Proc. IEEE Int. Symp. Biom. Imaging*, 2016; 1033–1036.
- [5] Temerinac-Ott, M.; Forestier, G.; Schmitz, J.; Hermsen, M.; Bräsen, J.H.; Feuerhake, F.; Wemmert, C. Detection of glomeruli in renal pathology by mutual comparison of multiple staining modalities. In *Proc. Int. Symp. on Image and Signal Processing and Analysis*, 2017; 19–24.
- [6] Pedraza A., Gallego J., Lopez S., Gonzalez L., Laurinavicius A., Bueno G. Glomerulus Classification with CNN. *Medical Image Understanding and Analysis. Communications in Computer and Information Science*, 2017; vol 723.
- [7] Gallego, J.; Pedraza, A.; Lopez, S.; Steiner, G.; Gonzalez, L.; Laurinavicius, A.; Bueno, G. Glomerulus Classification and Detection Based on CNN. *J. Imaging* 2018, 4, 20.
- [8] Gadermayr, M.; Dombrowskia, A.K.; Klinkhammerb, B.M.; Boorb, P.; Merhofa, D. CNN Cascades for Segmenting Whole Slide Images of the Kidney. 2016, arXiv:1708.00251.
- [9] Barros, G. O., et al. PathoSpotter-K: A computational tool for the automatic identification of glomerular lesions in histological images of kidneys. *Scientific reports*, 2017, vol. 7, p. 46769.
- [10] AIDPATH (Academia and Industry for Digital Pathology). European Project FP7 612471. Kidney database. <http://aidpath.eu/>.
- [11] E. Reinhard, M. Adhikhmin, B. Gooch, P. Shirley, Color transfer between images, *IEEE Computer graphics and applications* 21 (5) (2001) 34-41.
- [12] O. Ronneberger and P. Fischer and T. Brox "U-Net: Convolutional networks for biomedical image segmentation" *Int. Conf. on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*, 234-241, (2015).
- [13] Krizhevsky, A. and Sutskever, I. and Hinton, G. "Imagenet classification with deep convolutional neural networks". In *Proc of the Advances in Neural Information Processing Systems*, Stateline, NV, USA, 3–8 December 2012; pp. 1097–1105

Procesado de Señal III

Viernes, 23 de noviembre

Evaluación de la actividad cardíaca mediante la señal seismocardiográfica registrada mediante un dispositivo inalámbrico portable

R. Monteiro-Pereira², L. Estrada^{1,2,3}, 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.
{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

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial, por lo que se están desarrollando nuevos sistemas de monitorización para proporcionar a los médicos más información para prevenirlas mediante la identificación de distintos eventos y parámetros dentro del ciclo cardíaco. La seismocardiografía (SCG) es una técnica que consiste en el registro de las vibraciones corporales producidas por los movimientos del corazón durante el ciclo cardíaco mediante el uso de sensores de acelerómetros colocados en el pecho del sujeto, preferiblemente sobre el esternón. En los últimos años se han desarrollado dispositivos inalámbricos portátiles que permiten el registro de la señal SCG, ofreciendo un potencial prometedor para la monitorización continua de la actividad cardiovascular mediante esta señal. En este trabajo se han evaluado señales SCG obtenidas a partir de un dispositivo inalámbrico portable. La base de datos obtenida contiene grabaciones en 8 sujetos sanos, con el uso de SCG. Durante la adquisición de las señales, se ha establecido un protocolo respiratorio para realizar una base de datos con diferentes condiciones respiratorias, aunque en este trabajo se presentan sólo resultados de señales durante apnea voluntaria. Mediante la señal SCG adquirida a partir del dispositivo portable fue posible detectar los dos eventos cardíacos de mayor amplitud, relacionados con la apertura y cierre de la válvula aórtica. A partir de estos se identificaron los instantes correspondientes a la apertura de la válvula aórtica, el cierre de la válvula aórtica, el momento isovolumétrico y el cierre de la válvula mitral.

1. Motivación

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son hoy en día la primera causa de muerte en el mundo, representando el 31% de todas las muertes mundiales (17,7 millones en todo el mundo) y se ha comprobado que esta tendencia aumenta cada año [1] debido a que cada año hay un aumento de los factores de riesgo relacionados con el estilo de vida de los países desarrollados. En estudios recientes, se ha demostrado que hasta el 90% de las ECV podrían ser eliminadas mediante la reducción de los principales factores de riesgo y el seguimiento de aquellos sujetos que se identifican como individuos potenciales que podrían sufrir ECV [2]. Los estudios muestran que el 50% de los pacientes que murieron a causa de una ECV no fueron diagnosticados a tiempo y que, sin una intervención en el momento adecuado, es probable que los pacientes tengan una tasa de supervivencia baja. También es importante reducir el tiempo de diagnóstico al tratamiento para reducir la mortalidad por ECV [3]. En estos casos, se están

estudiando nuevos sistemas de monitorización de la actividad cardíaca para poder disminuir la tasa de mortalidad.

En la actualidad se están desarrollando nuevas técnicas de sensores de evaluación de la actividad cardiovascular para poder ser utilizados en cualquier situación, tratando de reducir algunas de las limitaciones anteriormente mencionadas. La señal de seismocardiografía (SCG) es una señal que se investigó por primera vez en la década de 1960, pero que aún no se ha desarrollado completamente ni se ha implementado clínicamente. Esta señal proporciona al usuario información mecánica del corazón, como la ecocardiografía, y se adquiere a través de acelerómetros colocados en el pecho, este tipo de sensor ha evolucionado rápidamente en los últimos años y su coste ha disminuido [4]. Los objetivos principales del presente trabajo es la evaluación de un dispositivo inalámbrico portátil comercial (Shimmer3, Shimmer Research Ltd, Dublin, Ireland) para el registro sin cables de la señal SCG y la obtención de parámetros relacionados con la actividad cardíaca.

2. Materiales y métodos

El estudio se realizó en 8 sujetos sanos que se ofrecieron voluntariamente (6 hombres y 3 mujeres, media \pm desviación estándar: 22.33 \pm 1.12 años, altura 171.22 \pm 8.57 cm, peso 66 \pm 13.20 kg, IMC 22.27 \pm 2.47 kg/m²) sin condiciones médicas relevantes. El protocolo respiratorio fue realizado en el Institut de Bioenginyeria de Catalunya y previamente aprobado por el *Institutional Review Board* de la institución. Todos los sujetos fueron informados en detalle del propósito del estudio y de los métodos utilizados y dieron su consentimiento por escrito. Dos sujetos realizaron dos adquisiciones, lo que hace que la base de datos contenga un total de 10 registros.

2.1. Protocolo respiratorio

Cada adquisición fue registrada siguiendo un protocolo respiratorio, que consiste en 4 etapas. En primer lugar, se le pidió al sujeto que realizara una prueba de espirometría forzada (FS) con el fin de registrar los parámetros básicos de ventilación del sujeto, como son el volumen espiratorio forzado durante el primer segundo (FEV1) y la capacidad vital forzada (FVC). A continuación, se realizó el test de generación de la presión inspiratoria máxima con oclusión

(MIP). La tercera etapa es una maniobra de contención de la respiración, en la que el sujeto debía realizar una apnea durante 15-20 segundos. Esta etapa es importante porque se utiliza para medir las señales en las que el movimiento y la actividad muscular respiratorio deben ser mínimos, logrando también la SNR mínima de señales. Durante la última etapa, el sujeto realizó 4 pruebas con una carga inspiratoria incremental (ILL), que consiste en respirar 15 ciclos respiratorios con diferentes niveles de carga respiratoria: sin carga y al 20%, 40% y 60% de la MIP alcanzada en la etapa anterior. Los sujetos realizaron un descanso de 5 minutos entre cada carga. Durante la prueba los sujetos estaban sentados en una silla, con una postura recta y con ambos brazos relajados sobre una mesa. Con el fin de evitar la respiración nasal se les colocó una pinza nasal. En este trabajo se presentan resultados únicamente de señales registradas durante la etapa de 15-20 segundos de apnea.

2.2. Adquisición de las señales

Para adquirir la señal SCG se utilizó el dispositivo inalámbrico portátil Shimmer3 (Shimmer Research Ltd, Dublin, Ireland) que incluye un acelerómetro triaxial (Kionix KXR5-2042, Kionix, Inc.). Este dispositivo tiene un amplificador de ganancia variable con una ganancia de hasta 12, un ancho de banda de 8500 Hz y un convertidor analógico-digital de 24 bits de resolución. La frecuencia de muestreo para las adquisiciones se fijó en 1024 Hz, para lo cual el Shimmer3 aplica previamente un filtro paso bajo con una frecuencia de corte de 268.29 Hz. Los datos se almacenaron en una tarjeta microSD integrada y enviados vía Bluetooth® a un ordenador para visualizarlos durante la adquisición.

El dispositivo Shimmer se fijó con cinta adhesiva de doble cara en la parte central de la pared torácica, en el centro del esternón, a la altura de las costillas segunda y tercera, tal como se muestra en la Figura 1. La señal SCG queda registrada por el eje del acelerómetro que queda en posición dorsal-ventral (el eje z). Además de la señal del acelerómetro, el dispositivo Shimmer3 permite el registro simultáneo de dos señales bioeléctricas en configuración bipolar. Para evaluar la actividad muscular respiratoria se registró adicionalmente una señal electromiográfica (EMG) paraesternal, colocando los 2 electrodos a izquierda y derecha del esternón con una distancia entre electrodos de 4 cm.

Simultáneamente al SCG se registró el ECG y las señales de presión inspiratoria en boca (Presión). El ECG fue medido usando una derivación estándar de lead-I con dos electrodos del mismo tipo colocados en las muñecas



Figura 1. Colocación del dispositivo portátil shimmer3 sujeto con cinta adhesiva de doble cara al pecho del sujeto.

derecha e izquierda y conectados a un amplificador modular de ECG (ECG100, Biopac Systems, Inc.) con una ganancia de 1000 y un filtro analógico paso-bajo de 35 Hz. La Presión fue medida usando un transductor de presión diferencial (TSD160A, Biopac Systems, Inc.) conectado a un amplificador modular (DA100C, Biopac System, Inc.) con un filtro analógico paso-bajo fijado a 300 Hz y una ganancia de 1000. Las señales ECG y Presión se registraron a 2000 Hz, se visualizaron en tiempo real en una pantalla de monitor y se guardaron en un ordenador (software AcqKnowledge v.3.2 Biopac Systems Inc.).

2.3. Procesado de las señales

Las señales fueron exportadas y tratadas mediante el software MATLAB (The MathWorks, Inc., v. R2016b, Natick, MA, USA). A continuación, se describen los pasos seguidos para extraer los parámetros de la señal SCG.

1) *Sincronización de las señales adquiridas con Shimmer3 y Biopac MP150.* Para sincronizar las señales adquiridas con Shimmer3 y Biopac se ha utilizado una técnica basada en la secuencia de correlación cruzada entre la señal ECG adquirida con Biopac y la señal EMG parasternal adquirida con Shimmer3, ya que esta señal registra adicionalmente actividad ECG. En primer lugar, se remuestrearon las señales registradas con Biopac a 1024 Hz, posteriormente se filtro entre 5 y 25 Hz la señal EMG parasternal registrada con Shimmer3 y finalmente se calculó el retardo entre señales mediante la correlación cruzada

2) *Promediado basado en detección QRS.* Como el objetivo es extraer datos cardíacos del SCG, se utilizó el ECG como señal de apoyo, ya que es una de las principales señales utilizadas para estudiar la actividad cardíaca. Uno de los principales parámetros del ECG es el complejo QRS, que corresponde a la despolarización ventricular, y en consecuencia a la contracción ventricular. Se ha demostrado que el complejo QRS [5] es un parámetro útil como marca de referencia para procesar una técnica de promediado de señales. Para detectar el QRS se ha realizado una función basada en el algoritmo de Pan-Tompkins [6]. Como espectro de frecuencia SCG también se encuentra en el espectro de ruido, la técnica de promediado de señal es ampliamente utilizada en señales SCG para extraer las características principales y la forma de onda típica de la señal. Utilizando el complejo QRS como punto de referencia para generar un alineamiento se obtuvo un primer patrón de sonidos cardíacos. A partir de este patrón, se realizó un análisis de tiempo-frecuencia, mediante el espectrograma, y se observó la existencia de dos rangos de frecuencia diferentes, tal como se observa en la Figura 2; el primer rango es de 0.6-20Hz y distribuido a lo largo de las señales; el segundo rango es de 20-40Hz. Ambos rangos están altamente relacionados con el primer y segundo ruido cardíaco (sonidos S1 y S2), sin embargo, en el rango de 20 a 40 Hz se observa una mayor relación señal ruido.

3) *Detección de latidos cardíacos en la señal SCG.* Para detectar los latidos cardíacos en la señal SCG, en primer lugar, se filtró la señal SCG entre 20 y 40 Hz. Una vez filtrada se calcularon 3 medias móviles de esta señal, con ventanas de 0.1, 0.4 y 5 s. En la media móvil de 0.1 s se

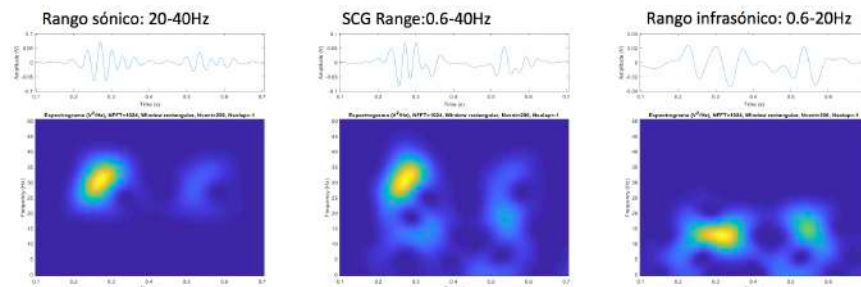


Figura 2. Espectrograma del patrón SCG obtenido mediante promediado alineando con la detección de QRS en la señal de ECG (B) y detalles del rango sónico (A) e infrasónico (C) de este patrón.

producen picos tanto en S1 como en S2, en la ventana de 0.4 s se producen picos cuando hay un latido cardíaco, mientras que la ventana de 5 s se utiliza como nivel de referencia. En una primera comparación se compararon las ventanas de 0.4 y 5 s para detectar actividad cardíaca. En una segunda comparación, en cada detección de actividad cardíaca se compararon las ventanas de 0.1 y 0.4 s para detectar los sonidos S1 y S2. En la Figura 3 se muestra un ejemplo del proceso.

4) *Promediado basado en detección de eventos cardíacos en la señal SCG.* Como el objetivo es utilizar únicamente la señal SCG, en este segundo promediado no se utilizó la señal ECG como referencia para la detección de complejos QRS. Para realizar el promediado con la señal SCG se utilizaron 3 métodos de alineamiento, uno basado en la salida del detector de actividad cardíaca en la señal SCG, una segunda basada en la correlación con un template, seleccionado manualmente para cada paciente, que incluyera los sonidos S1 y S2, y un tercer método basado en la correlación con un template que incluyera únicamente el sonido S1 (de mayor amplitud), siendo este último método el que presentó mejor comportamiento. En la Figura 4 se puede observar un ejemplo de alineamiento de estos 3 métodos.

5) *Extracción de parámetros significativos del patrón SCG promediado.* Después obtener un patrón SCG promediado, se realizó la detección de la posición de las ondas relevantes. Se detectaron 4 ondas características de SCG: a) la apertura de la válvula aórtica (onda AO) está muy relacionada con el primer sonido cardíaco (S1) y debe ser el pico de onda máxima en la duración del evento [7]. Para detectar esta onda, se encontraron máximos locales utilizando una ventana de la duración S1, extraída a través del ancho y la posición de la detección S1. Un ejemplo de la ventana utilizada puede observarse en la Figura 5a; b) el

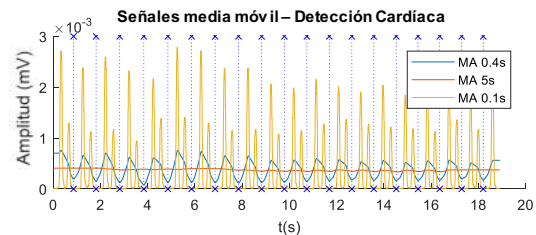


Figura 3. Ejemplo de la detección de los sonidos S1 y S2 de la señal SCG mediante la utilización de medias móviles.

cierre de la válvula aórtica (onda AC) está altamente relacionado con el segundo sonido cardíaco (S2) y debería ser el pico de onda máximo en la duración del evento [7]. Para detectar esta onda, se encontraron máximos locales utilizando una ventana de la duración S2, extraída a través del ancho y la posición de la detección S2. Un ejemplo puede observarse en la Figura 5b; c) el momento isovolumétrico (onda IM) se puede encontrar como el pico de mínimo antes de la onda AO. Para encontrar esta onda, se buscó el primer mínimo antes de la onda AO, se puede observar un ejemplo en la Figura 5c; d) el cierre de la válvula mitral (onda MC) se puede encontrar como la primera onda máxima antes de la onda IM, con el fin de encontrar este parámetro, el primer máximo se buscó antes de la onda AO, un ejemplo se puede observar en la Figura 5d.

3. Resultados

El detector de actividad cardíaca basado en la señal SCG detectó correctamente el número de latidos sin falsos positivos y con un máximo de dos latidos no detectados. Esos latidos no detectados suelen ser el primer y último latido de la señal, porque la detección QRS necesita una ventana de análisis más pequeña que el método basado en

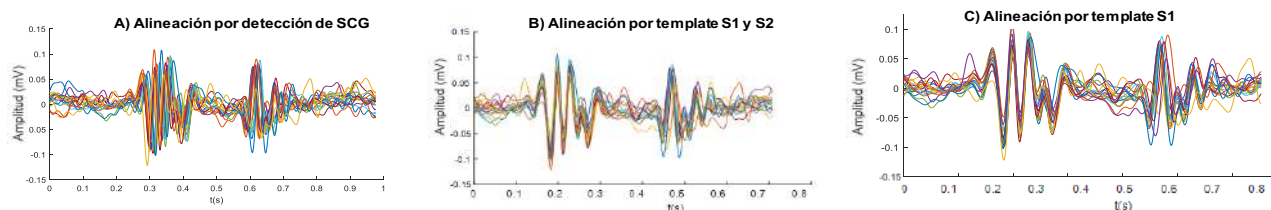


Figura 4. Señales SCG alineadas utilizando (a) la salida del detector basado en la señal SCG, (b) la correlación entre un template de los sonidos S1 y S2 y (c) la correlación de un template con únicamente el sonido S1.

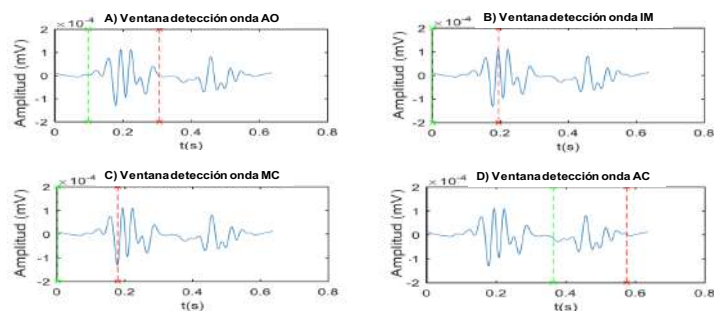


Figura 5. Ejemplo de ventanas utilizadas para detectar las ondas SCG. A) Ventana de detección de AO, B) ventana de detección de IM, C) Ventana de detección de MC, D) ventana de detección de AC; Indicador verde: Inicio ventana; Indicador rojo: Fin ventana

la señal SCG, por lo tanto, si el latido no ha terminado en la señal del acelerómetro, no es posible detectar el latido.

Respecto al promediado de señal, se analizaron tres métodos de alineación diferentes: 1) la alineación de la posición de QRS obtenido con el ECG, 2) la alineación de correlación S1 y S2, y 3) la alineación de correlación S1. Para comparar el comportamiento de los tres métodos se calculó para cada patrón promedio el factor de forma entre el valor de pico a pico del patrón y la desviación estándar del patrón, siendo el valor medio y desviación estándar de 8.28 ± 1.28 , 7.08 ± 0.73 y 7.34 ± 1.17 , respectivamente. Como era de esperar, el mejor método de alineación es el método basado en la detección del QRS, aunque este método necesita datos de señales externas (ECG). De los métodos basados únicamente en la señal SCG el método basado en la alineación de correlación S1 es el que tiene mejor comportamiento.

Finalmente, de los patrones promedio obtenidos con el alineamiento de la correlación con el sonido S1 en los 10 registros analizados, en todos se pudo detectar correctamente la onda AC que es siempre la onda de mayor amplitud en la duración del segundo sonido cardíaco. En el caso de la onda AO tan sólo se detecta en 8 de los 10 casos, debido a la alta variabilidad de la morfología del SCG. En la duración de S1 deben existir al menos dos ondas de alta amplitud, siendo la primera de ellas la onda AO, pero, como se indica en la literatura [7], las morfologías entre sujetos son muy variables. Así, se ha encontrado que la existencia de ondas de alta amplitud y de alta frecuencia va desde una sola onda, hasta tres ondas diferentes. Las ondas IM y MC dependen de la detección de ondas AO. En todas las detecciones AO se identificaron correctamente las ondas IM y MC.

4. Discusión y conclusión

En este trabajo se ha demostrado la utilidad del dispositivo portátil inalámbrico Shimmer3 para registrar la señal SCG. La señal SCG registrada permite determinar los parámetros cardíacos característicos de esta señal, aunque este análisis se ha realizado utilizando señales adquiridas en apnea, lo que significa que los artefactos de la respiración y otros posibles movimientos se reducen considerablemente. Coincidiendo con la literatura [7], se ha comprobado que estas señales tienen dos rangos de frecuencia muy relacionados, uno que incluye 0.6-20 Hz y el otro que incluye 20-40 Hz. Mediante el uso del segundo rango de

frecuencias, es posible determinar el tiempo sistólico, diastólico y los eventos del ciclo cardíaco mediante la identificación de cada sonido cardíaco (S1 y S2). Uno de los siguientes pasos podría ser la evaluación de las señales adquiridas durante diferentes condiciones respiratorias, lo que podría conducir a la extracción de señales SCG en situaciones cotidianas más comunes. Estas señales pueden ser analizadas con el uso de señales de ECG como señal de referencia para identificar cambios morfológicos y, posteriormente, analizar si la morfología puede ser extraída de un registro SCG independiente.

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).

Referencias

- [1] World Health Organization (WHO). Global Hearts Initiative Infographic Geneva, 2018 [www.who.int/global_hearts, 20/06/2018]
- [2] McGill, Henry C.; McMahan, C. Alex; Gidding, Samuel S. Preventing heart disease in the 21st century: implications of the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) study. *Circulation*, 2008, vol. 117, no 9, p. 1216-1227
- [3] Bach, David S., et al. Evaluation of patients with severe symptomatic aortic stenosis who do not undergo aortic valve replacement: the potential role of subjectively overestimated operative risk. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 2009, vol. 2, no 6, p. 533-539.
- [4] Albarbar, A., et al. Performance evaluation of MEMS accelerometers. *Measurement*, 2009, vol. 42, no 5, p. 790-795.
- [5] Wilson, Richard A., et al. Diagnostic accuracy of seismocardiography compared with electrocardiography for the anatomic and physiologic diagnosis of coronary artery disease during exercise testing. *The American journal of cardiology*, 1993, vol. 71, no 7, p. 536-545.
- [6] Pan, Jiapu; Tompkins, Willis J. A real-time QRS detection algorithm. *IEEE transactions on biomedical engineering*, 1985, no 3, p. 230-236
- [7] Shafiq, Ghufan, et al. Automatic identification of systolic time intervals in seismocardiogram. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, p. 37524.

Optimización del algoritmo de clasificación supervisada KNN como herramienta de soporte para la implantación de estimuladores cerebrales profundos en pacientes con Parkinson

G. Bellino¹, M. Battisti¹, L. Schiaffino¹, J. Guerrero², A. Rosado²

¹ Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Entre Ríos, Paraná, Argentina.

gabriel.bellino@gmail.com, mbattisti@ingenieria.uner.edu.ar, lschiaffino@ingenieria.uner.edu.ar

² Escuela Técnica Superior de Ingeniería – ETSE. Universitat de València

Resumen

La estimulación cerebral profunda (DBS) de los núcleos subtalámicos (STN) del cerebro es el tratamiento quirúrgico más utilizado para mejorar los trastornos motores de los pacientes con enfermedad de Parkinson (EP) que no responden o presentan efectos colaterales al tratamiento farmacológico. Durante la cirugía para la implantación de un sistema DBS se obtienen señales a través de microelectrodos de registro (MER) a diferentes profundidades del cerebro, las cuales son analizadas por neurofisiólogos para detectar la entrada y salida del STN, así como la profundidad óptima para la implantación. En el presente trabajo se desarrolla un modelo de clasificación supervisada mediante el algoritmo K vecinos más cercanos (KNN) el cual es entrenado en forma automática a partir de características temporales de los registros MER. En particular se analiza el desempeño de KNN cuando el mismo es obtenido bajo tres formas diferentes de estandarizar sus datos de entrenamiento provenientes de registros MER de 14 pacientes con EP a los cuales se les implantó un DBS en los STN. Los resultados indicaron que KNN entrenado con datos estandarizados por hemisferio cerebral y por paciente presentó el mejor desempeño, logrando una exactitud del 94,35% frente al 81,94% ($p < 0.001$) correspondiente a KNN entrenado con datos sin estandarizar. Los tiempos obtenidos de entrenamiento y validación menores a 0,4 s junto con la excelente exactitud obtenida permiten inferir bajo las condiciones experimentales del presente estudio que el algoritmo podría ser utilizado en tiempo real como herramienta de soporte en cirugías de implantación de DBS.

1. Introducción

La EP es una enfermedad neurodegenerativa producida por la muerte progresiva de las neuronas productoras de dopamina de la sustancia negra. La disminución de los niveles de dopamina produce un efecto en otros núcleos basales del cerebro como el estriado, el núcleo subtalámico y el globo pálido las cuales juegan un papel relevante en la inhibición y control de los movimientos del ser humano [1], [2]. La EP constituye un problema de salud importante que afecta a nivel mundial estimativamente entre el 1-2% de los mayores de 65 años [3]. Los síntomas motores de la EP son bradicinesia, temblor en reposo, rigidez, inestabilidad postural y los no motores son trastornos del sueño, disfunciones cognitivas, entre otros [1], [2].

El tratamiento inicial de la EP es farmacológico, sin embargo, en algunos casos no se consigue un control adecuado de los síntomas. En otros casos, la medicación provoca efectos secundarios discapacitantes, como la

aparición de discinesias o intolerancia. Asimismo, luego de 5 o 6 años de este tratamiento, el mismo deja de tener efecto y reaparecen los síntomas iniciales [1], [2]. Ante las situaciones descritas, la terapia DBS es un tratamiento eficaz [4]. El dispositivo cuenta con un generador de pulsos implantado y electrodos de estimulación, que actúan como un marcapasos del cerebro y es efectivo para mejorar los trastornos motores de la EP. La zona de estimulación más habitual es el STN de ambos hemisferios cerebrales para reducir la hiperactividad crónica de las neuronas involucradas [5], [6]. El STN es una estructura discoidea de aproximadamente $5.9 \times 3.7 \times 5$ [mm] situada entre el diencéfalo y el mesencéfalo rodeada de sustancia negra, núcleo rojo y zona incierta [2] (ver figura 1).



Figura 1. Componentes de un sistema DBS y zonas de implantación en un corte sagital. Adaptado de [6].

Para la implantación del neuroestimulador se emplean procedimientos estereotácticos, utilizando un instrumento fijado al cráneo que posibilita localizar tridimensionalmente una estructura cerebral de referencia [6], [7]. Para localizar la zona STN generalmente se utilizan: imágenes de resonancia previas a la cirugía, atlas genéricos, imágenes de tomografía realizadas durante la cirugía, reconstrucción 3D de la fusión de imágenes de resonancia y tomografía (coregistro), el análisis de ritmo beta del STN y el análisis visual y acústico de las señales obtenidas mediante MER [6], [7].

Uno de los procedimientos más utilizados para determinar la correcta implantación de los electrodos es el análisis de los registros MER [4]. Los MER tienen menos de 100 micrómetros de diámetro e ingresan al cerebro atravesando distintas estructuras funcionales como son el tálamo anterior (TH), la zona incierta (ZI), el núcleo subtalámico

(STN) y la sustancia negra pars reticulata (SNr) [4]. Cada una de ellas presenta registros eléctricos específicos siendo señales no estacionarias [4], [6], conformadas por secuencias de disparos provenientes de: la actividad neuronal denominadas espigas, la actividad neuronal de fondo, y por artefactos [8]. El éxito del tratamiento depende de la exactitud con la que se realice la detección del área objetivo del cerebro, la cual resulta una tarea compleja. Recientemente se han publicado los primeros trabajos [4], [9], donde se ha utilizado el procesamiento de señales y la minería de datos para localizar regiones específicas del cerebro como TH, ZI, STN o SNr basados únicamente en los MER.

En [4], se trabajó con 13 características temporales (6 independientes y 7 dependientes de las espigas) obtenidas de registros MER de 17 pacientes. Los mejores resultados fueron obtenidos con los árboles de decisión que utilizaron como criterio de división de ganancia de información logrando una exactitud promedio del 89,61% en la localización de estructuras cerebrales. También utilizaron para entrenar KNN y árboles de decisión, un indicador frecuencial-temporal, pero los resultados obtenidos no fueron alentadores (50,2% de exactitud promedio).

Por otro lado, en el trabajo de [9] se propone un método de clasificación propio con una estructura similar a un árbol de decisión binario, trabajando con 2 características temporales y 2 frecuenciales vinculadas a la potencia en el rango de frecuencias beta y gamma, con el objetivo de detectar la entrada y salida del electrodo en STN. El algoritmo logró un 88% en la detección del STN según las clasificaciones que realizan los neurofisiólogos.

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es obtener un algoritmo de clasificación con un buen desempeño y que pueda utilizarse como herramienta de soporte para detectar la zona cerebral del STN a partir de los registros MER obtenidos durante una cirugía para implantar un neuroestimulador en pacientes con EP.

Según la base de datos analizada y las pruebas exploratorias realizadas con clasificadores supervisados individuales, el algoritmo KNN presentó el mejor desempeño. Dado que la estandarización de las características puede resultar una variable de peso en el entrenamiento y validación de clasificadores, y que este aspecto ha sido abordado limitadamente en otros trabajos, se propone trabajar con el algoritmo KNN y comparar su desempeño cuando las características obtenidas de los registros MER se encuentran sin estandarizar y estandarizadas: con los datos de todos los pacientes, por paciente y por hemisferio cerebral por paciente.

3. Materiales y métodos

3.1. Registro de datos

De la cirugía bilateral de DBS realizada en 14 pacientes con EP, donde el estimulador fue implantado en el STN, se obtuvieron los registros de la actividad eléctrica neuronal a distintas profundidades del cerebro. Dichas cirugías fueron realizadas en el Hospital La Fe de Valencia, España. En

este contexto, se realizó la planificación previa a la cirugía de la trayectoria de la cánula guía donde se desplazan los MER, mediante imágenes de resonancia magnética (MRI), lo que permite definir la zona objetivo o “target” que en nuestro trabajo fue el STN. Durante las cirugías, dos neurofisiólogos analizaron continuamente los registros eléctricos que se obtienen con los MER a medida que el electrodo va atravesando distintas estructuras del cerebro, lo que permite establecer si la estructura es o no STN, su ingreso/salida como así también la mejor zona de implantación dentro de esta estructura basal. Esta clasificación fue validada off-line por los coregistros de imágenes obtenidos de la fusión de la MRI previa a la cirugía, con la tomografía realizada durante la cirugía.

En nuestro trabajo, el registro de la actividad eléctrica neuronal se realizó por cada hemisferio cerebral, con 2 MER de Pt-Ir por hemisferio que ingresaron paralelos y separados por 2 mm. Se utilizaron MER marca Alpha Omega con una impedancia de 1 M Ω a 1000 Hz. Los registros fueron obtenidos a una frecuencia de muestreo de 12 kHz con un conversor de 16 bits, una ganancia de total de 10000x aplicando un filtro de línea a 50 Hz y un filtro pasabanda Butterworth entre 200 Hz y 6000 Hz. Todos los registros fueron obtenidos con el sistema MicroGuide Pro TM de la marca Alpha Omega. Este sistema también adquiere la profundidad de los MER respecto de la superficie del cráneo y de la posición marcada como objetivo. Los registros se iniciaron 7 mm antes de la zona objetivo con un avance de los MER en pasos de 0,2 mm registrando al menos 30 s en cada posición. Por paciente se tienen en promedio 140 \pm 12 registros a distintas profundidades de ambos hemisferios.

3.2. Características obtenidas a partir de los registros MER

Las señales fueron procesadas en ventanas de 4 s solapadas al 50% con el objetivo de calcular 18 características temporales en forma off-line utilizando Matlab® versión R2017a. Fue demostrado en [4] que este tamaño de ventana es el óptimo para capturar la suficiente cantidad de espigas que permitan detectar cambios de estructuras subcorticales y lo suficientemente pequeñas para el procesamiento a tiempo real. Aquellos registros que por ventana poseían artefactos y/o valores de señal muy bajos o nulos fueron descartados. Para los registros válidos se calcularon las siguientes características según lo propuesto en [4], [10].

Características independientes de las espigas. VAB: valor de amplitud basal; KURT: curtosis de la señal; CL: longitud de curva; TH: umbral de la amplitud de la señal; PK: número de picos; RA: RMS de la amplitud; NE: energía media no lineal; ZC: cruces por cero.

Características dependientes de las espigas. SBI: Índice de ráfaga de espigas; SP: Relación de pausa de espigas; SPR: Ratio de pausa; SC: Frecuencia de disparo en espigas por segundo; SMAD: amplitud diferencial media de espigas; SCR: Ratio de conteo de espigas; SSD: Desviación estándar de los intervalos entre espigas; SF: mediana de la frecuencia de disparo de las espigas en Hz; SSD media: valor medio de los intervalos entre espigas; SSD mediana: mediana de los intervalos entre espigas.

La base de datos se conformó por 34.898 registros de 4 s a los cuales se le calcularon las 18 características antes enumeradas, estando cada ventana etiquetada por neurofisiólogos entrenados como STN o no STN. Del total de ventanas, un 52% correspondieron a la clase STN. Posteriormente se realizó una estandarización de la base de datos original, restando la media y dividiendo por el desvío estándar de las características trabajadas. A partir de esto, se generaron tres bases de datos adicionales:

- Estandarizada con del total de pacientes
- Estandarizada por paciente
- Estandarizada por paciente y por hemisferio cerebral

3.3. Clasificador de K vecinos más cercanos (KNN)

Sea $R(z) \subset \mathfrak{R}^N$ una hipersfera con volumen V y centro z . N_k es el número de muestras del conjunto de entrenamiento T_k para el clasificador KNN y W_k la clase asignada. La probabilidad de tener exactamente n muestras dentro de $R(z)$ tiene una distribución binomial [11] según (1).

$$E[n] = N_k \int_{y \in R(z)} p(y | w_k) dy \approx N_k V_{p(y|w_k)} \quad (1)$$

Si se selecciona un radio alrededor de z que genere un volumen que contenga exactamente K muestras entonces ese radio y su volumen dependen de la posición z en el espacio de medición [11]. Por lo tanto, podemos escribir $V(z)$ en lugar de V siendo la estimación de la densidad [12] la indicada en (2).

$$\hat{p}(z | w_k) = \frac{K}{N_k V(z)} \quad (2)$$

En KNN se fija el valor de K para estimar el modelo y se calcula el volumen $V(z)$ mínimo que abarcan esas K muestras. La expresión (2) indica que en las regiones donde la estimación de densidad es grande, se espera que el volumen sea pequeño. Si la estimación es pequeña, la esfera necesita crecer para recoger las muestras necesarias [12]. Asimismo, el parámetro K controla el equilibrio entre el sesgo y la varianza, según lo indicado en (3) [11].

$$K \rightarrow \infty \text{ y } N_k \rightarrow \infty \text{ Para obtener una varianza baja}$$

$$\frac{K}{N_k} \rightarrow 0 \text{ y } N_k \rightarrow \infty \text{ Para obtener un sesgo bajo} \quad (3)$$

La técnica KNN tiene un interés práctico ya que trabaja sobre el conjunto de muestras para estimar el modelo sin calcular la densidad de probabilidad. Si K_k es número de muestras vecinas encontradas de la clase W_k entonces un estimador de la densidad condicional es (4).

$$\hat{p}(z | w_k) \approx \frac{K_k}{N_k V(z)} \quad (4)$$

Combinando (4) con el clasificador de Bayes Naive con función de costo uniforme [11] se obtiene la clasificación estimada según (5) si $\hat{w}(z) = w_k$.

$$k = \arg \max_{i=1, \dots, k} \{ \hat{p}(z | w_i) \hat{P}(w_i) \} = \arg \max_{i=1, \dots, k} \left\{ \frac{K_i}{N_i V(z)} \frac{N_i}{N_s} \right\}$$

$$k = \arg \max_{i=1, \dots, k} \{ K_i \} \quad (5)$$

De la expresión anterior se concluye que la clase asignada al vector z es aquella con mayor número de muestras vecinas de la clase W_k más cercana a z . En el algoritmo KNN, mediante optimización Bayesiana se obtuvo que un valor de $K=9$ y medición de distancia tipo *cityblock*, fueron los parámetros que minimizaron la función de error de clasificación de KNN para el conjunto total de datos.

3.4. Desempeño de los clasificadores

Se generaron 14 subconjuntos de entrenamiento y validación para las 4 bases de datos con las características calculadas según 3.2. Para generar el subconjunto 1 se tomaron los datos del paciente 1 para validación y los datos del resto de los pacientes (2 al 14) para entrenamiento y así sucesivamente según lo propuesto en [4] (*leave one patient out*). A partir de esto, se calcularon 14 clasificadores KNN con cada base de datos con características sin estandarizar (KNN) y estandarizadas: con los datos de todos los pacientes (KNN_EST); por paciente (KNN_PAC); y por hemisferio cerebral y por paciente (KNN_HEM).

Luego, utilizando los respectivos conjuntos de datos de validación se analizó el desempeño de los clasificadores calculando los siguientes índices de desempeño: exactitud (ACC), sensibilidad (SEN), especificidad (ESP), área bajo la curva ROC (AUC) e índice de diagnóstico (DOR).

Se realizaron estudios descriptivos y comparaciones estadísticas con pruebas no paramétricas, verificando los supuestos de normalidad mediante Kolmogorov-Smirnov, con rechazo de hipótesis nula con $p < 0,05$. Para el análisis de significancia global se utilizó el test de Friedman y para las comparaciones pareadas de clasificadores se utilizó Nemenyi como test post-hoc. El umbral de significancia entre las comparaciones se aceptó al 95% ($p < 0,05$).

Todos los resultados se expresan como la media y desviación estándar (Media \pm SD). Para el cálculo de los índices de desempeño y análisis estadístico se utilizó SPSS Statistics v24 y el toolbox estadístico Statistics and Machine Learning de Matlab® versión R2017a.

4. Resultados y discusión

En la tabla 1 pueden observarse los resultados promedio obtenidos de los 14 clasificadores para las 4 versiones del algoritmo KNN según sección 3.4. Asimismo, se presentan los tiempos promedios de entrenamiento y validación. Puede observarse que los 4 clasificadores se entrenan rápidamente y en tiempos similares. Por otro lado, el proceso de validación para los datos de un nuevo paciente representa un orden de magnitud superior al tiempo de

	ACC	ESP	SEN	AUC	DOR	t_entrenamiento	t_validación
KNN	0,8194 \pm 0,0074	0,7863 \pm 0,0114	0,8499 \pm 0,0084	0,9028 \pm 0,0048	21,9095 \pm 2,1969	0,0514 \pm 0,0579	0,4044 \pm 0,0221
KNN_EST	0,8563 \pm 0,0058	0,8299 \pm 0,0090	0,8807 \pm 0,0067	0,9230 \pm 0,0033	36,1316 \pm 3,5980	0,0369 \pm 0,0022	0,4093 \pm 0,0306
KNN_PAC	0,9358 \pm 0,0033	0,9344 \pm 0,0041	0,9371 \pm 0,0064	0,9761 \pm 0,0021	213,8659 \pm 24,6348	0,0349 \pm 0,0020	0,4037 \pm 0,0296
KNN_HEM	0,9435 \pm 0,0022	0,9422 \pm 0,0042	0,9446 \pm 0,0049	0,9815 \pm 0,0019	279,8760 \pm 22,9661	0,0357 \pm 0,0038	0,4028 \pm 0,0283

Tabla 1. Valores promedio para los índices de desempeño ACC, ESP, SEN, AUC y DOR; y tiempos de entrenamiento y validación (en segundos) para las 4 versiones de clasificadores KNN propuestos.

entrenamiento. La figura 2 presenta las curvas ROC para las 4 versiones del algoritmo. Puede observarse tanto en los valores promedio de la tabla 1 como en el área bajo la curva ROC de la figura 2 que la versión KNN_HEM presenta el mejor desempeño promedio para todos los indicadores.

Se compararon estadísticamente mediante Friedman y por cada indicador de desempeño los resultados obtenidos con los 4 clasificadores entrenados. Dado que en todos los casos el test arrojó significancia global ($p < 0,001$) se realizó el test Nemenyi para obtener la comparación de a pares, cuyos resultados se presentan en la tabla 2.

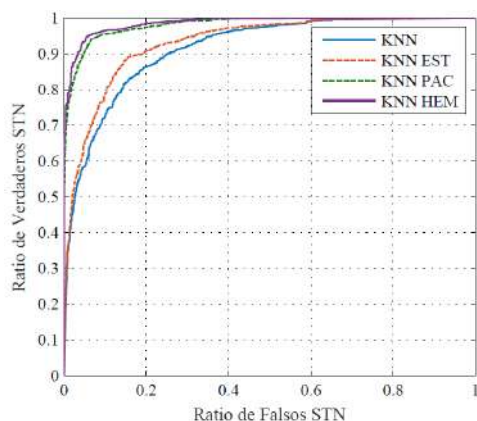


Figura 2. Curvas ROC para los 4 clasificadores propuestos.

Del análisis de los resultados obtenidos se observa que, si bien todos los clasificadores KNN entrenados presentan un desempeño aceptable, KNN_HEM presenta una mejora muy significativa al compararlo con KNN ($p < 0,001$) y KNN_EST ($p < 0,001$). Esto evidencia que bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, estandarizar los datos por hemisferio y por paciente permite obtener mejores resultados. Esta mejora se ve reflejada analizando el aumento en los índices de desempeño según la estandarización.

	ACC	ESP	SEN	AUC	DOR
Test de Friedman	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KNN vs KNN_EST	0,1701	0,1701	0,1701	0,1701	0,1701
KNN vs KNN_PAC	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KNN vs KNN_HEM	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KNN_EST vs KNN_PAC	0,1701	0,1701	0,1243	0,1701	0,1701
KNN_EST vs KNN_HEM	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
KNN_PAC vs KNN_HEM	0,1701	0,1701	0,2945	0,1701	0,1701

Tabla 2. Valores p del test de Friedman y del test de Nemenyi.

Si bien no se puede realizar una comparación directa con los resultados obtenidos en otros trabajos dado que se utilizan bases de datos diferentes, los porcentajes de clasificación obtenidos en el presente trabajo con KNN_HEM son superiores a los obtenidos por [4] y [9]. Se observa a partir de la tabla 1 que la sensibilidad es en todos los casos superior a la especificidad, lo que indica que el algoritmo KNN tiene mayor capacidad para detectar la zona STN, lo cual presenta una relevancia clínica en el contexto de la aplicación.

5. Conclusiones

Los resultados del presente trabajo plantean un modelo KNN_HEM que constituye el primer paso para un sistema de clasificación automático que trabaje en el quirófano como herramienta de soporte a los neurofisiólogos y neurocirujanos al momento de definir la localización óptima en la fijación del electrodo de estimulación de un sistema DBS en pacientes con Parkinson. Por otro lado, los tiempos de cómputo obtenidos en entrenamiento y validación implican que un algoritmo KNN en general puede utilizarse para validar los datos de un nuevo paciente en tiempo real.

Finalmente, un sistema de estas características permitirá reducir los tiempos de una cirugía de esta naturaleza además de brindar un resultado de clasificación objetivo.

Referencias

- [1] E. Peñas Domingo, *El libro blanco del Parkinson en España*. Federación Española de Párkinson, 2015.
- [2] A. H. Schapira y P. Jenner, «Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease», *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.*, vol. 26, n.º 6, pp. 1049-1055, may 2011.
- [3] E. R. Dorsey *et al.*, «Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030», *Neurology*, vol. 68, n.º 5, pp. 384-386, ene. 2007.
- [4] W. A. Chaovalitwongse, Y.-S. Jeong, M.-K. Jeong, S. F. Danish, y S. Wong, «Pattern Recognition Approaches for Identifying Subcortical Targets during Deep Brain Stimulation Surgery», *IEEE Intelligent Systems*, vol. 26, n.º 5, pp. 54-63, 2011.
- [5] S. J. Groiss, L. Wojtecki, M. Südmeyer, y A. Schnitzler, «Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease», *Ther. Adv. Neurol. Disord.*, vol. 2, n.º 6, pp. 20-28, nov. 2009.
- [6] T. Itakura, Ed., *Deep Brain Stimulation for Neurological Disorders: Theoretical Background and Clinical Application*, 2015 edition. New York: Springer, 2014.
- [7] J. S. Perlmutter y J. W. Mink, «Deep brain stimulation», *Annu. Rev. Neurosci.*, vol. 29, n.º 1, pp. 229-257, jun. 2006.
- [8] A. Moran y I. Bar-Gad, «Revealing neuronal functional organization through the relation between multi-scale oscillatory extracellular signals», *J. Neurosci. Methods*, vol. 186, n.º 1, pp. 116-129, ene. 2010.
- [9] H. Cagnan *et al.*, «Automatic subthalamic nucleus detection from microelectrode recordings based on noise level and neuronal activity», *J. Neural Eng.*, vol. 8, n.º 4, p. 046006, 2011.
- [10] J. Guerrero-Martínez *et al.*, «Characterization of Microelectrode Records in Deep Brain Stimulation Applied to Parkinson's Disease Patients», en *VI Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2014, Paraná, Argentina 29, 30 & 31 October 2014*, Springer, Cham, 2015, pp. 647-650.
- [11] R. Nisbet, J. F. Elder, y G. Miner, *Handbook of statistical analysis and data mining applications*. Amsterdam; Boston: Academic Press/Elsevier, 2009.
- [12] F. van der Heijden, Ed., *Classification, parameter estimation, and state estimation: an engineering approach using MATLAB*. Chichester, West Sussex, Eng.; Hoboken, NJ: Wiley, 2004.

Arquitecturas de aprendizaje profundo para la detección de pulso en la parada cardiaca extrahospitalaria utilizando el ECG

A. Elola¹, E. Aramendi¹, U. Irusta¹, A. Picón², E. Alonso¹

¹ Departamento de ingeniería de comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España, andoni.elola@ehu.eus

² TECNALIA Research & Innovation, Derio, Vizcaya, España

Resumen

La detección de la presencia de pulso durante la parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria es crucial para la supervivencia del paciente. Se ha demostrado que la toma manual del pulso no es muy fiable y que consume demasiado tiempo, por lo que es necesario desarrollar métodos automáticos que ayuden en la identificación del retorno de la circulación espontánea del paciente en parada. En este trabajo se propone utilizar técnicas de aprendizaje profundo para la discriminación automática de ritmos con pulso (PR) y sin pulso (PEA) utilizando solamente información proveniente del ECG. Se ha utilizado una base de datos que contiene 3914 segmentos de 5 segundos (3372 PR y 1542 PEA), que se dividieron en dos bases de datos con pacientes disjuntos para la optimización y evaluación de los métodos. Los mejores resultados se han obtenido utilizando una red neuronal profunda que contiene dos etapas de convolución y una etapa recurrente para la extracción de características y a continuación un clasificador. El modelo se evalúa en términos de sensibilidad (SE, porcentaje de PRs correctamente detectados) y especificidad (SP, proporción de PEAs correctamente detectados). Sobre la base de evaluación se obtuvieron una SE/SP de 94.2%/91.0%, por lo que puede concluirse que la detección automática del pulso utilizando sólo el ECG es viable mediante técnicas de aprendizaje profundo.

1. Motivación

La parada cardiorrespiratoria sigue siendo una causa importante de muerte en los países industrializados. La resucitación cardiopulmonar mediante compresiones torácicas y ventilaciones, junto con la desfibrilación temprana constituyen el tratamiento fundamental de la parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria [1]. La detección de pulso es esencial tanto para identificar la parada, como para la detección de la recuperación de circulación espontánea. Las dificultades del personal lego y de los clínicos para identificar la presencia de pulso [2]–[4] ha impulsado el desarrollo de métodos automáticos de detección de pulso, tanto para el reconocimiento de la parada como para la identificación del RCE.

Los desfibriladores externos automáticos (DEAs) son aparatos diseñados para ser utilizados por personal mínimamente entrenado. Dichos dispositivos adquieren dos señales a través de los parches de desfibrilación: el electrocardiograma (ECG) y la impedancia torácica. En los últimos años se han desarrollado métodos para la detección de pulso mediante el procesado de ambas señales [5]–[7]. Desafortunadamente, la mayoría de los DEAs comerciales no adquieren la señal de impedancia torácica con suficiente

resolución para que los métodos propuestos sean aplicables. Sin embargo, el ECG se adquiere con suficiente resolución para realizar el análisis del ritmo cardiaco, y su potencial para la detección del pulso en el contexto de la parada cardiorrespiratoria no se ha explorado en profundidad.

Las técnicas de aprendizaje profundo han demostrado ser muy eficientes para tareas de clasificación de señales biomédicas [8], incluso durante la parada cardiorrespiratoria [9]. En este trabajo se evalúan diferentes arquitecturas de aprendizaje profundo para la discriminación de ritmos organizados con pulso (PR) y ritmos organizados sin pulso (PEA).

2. Base de datos

La base de datos se ha construido a partir de una base de 1015 episodios adquiridos de pacientes en parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria en Dallas (Texas) por *DFW Center for Resuscitation Research*. Todos los episodios se adquirieron utilizando el dispositivo *Philips HeartStart MRx*, el cual adquiere el ECG con una frecuencia de muestreo de 250 Hz y una resolución de 1.03 μ V por bit menos significativo.

Un total de 1015 episodios contenían el ECG y la impedancia torácica, y basándose en la información clínica se separan en dos grupos: pacientes que han recuperado pulso y pacientes que no han recuperado pulso. En el primer grupo se dispone de la información del instante en el que el paciente ha recuperado pulso. Dicho instante fue anotado por el clínico en escena. Los pacientes que no recuperaron pulso y fueron transportados al hospital fueron descartados.

Los segmentos con una duración de 5 segundos y con complejos QRS discernibles fueron automáticamente detectados y se revisaron por tres ingenieros biomédicos. De los pacientes que recuperaron el pulso se extrajeron los segmentos PR, a partir del instante de recuperación de circulación espontánea anotado por el clínico. De los pacientes que no recuperaron el pulso se extrajeron los segmentos PEA. Entre dos PR consecutivos se deja una distancia mínima de 30 segundos, y entre dos PEA consecutivos una distancia mínima de 1 segundo.

La base de datos final contiene 279 pacientes (134 recuperaron el pulso), un total de 3911 segmentos (2372 PR y 1542 PEA). Estos datos se dividieron en dos

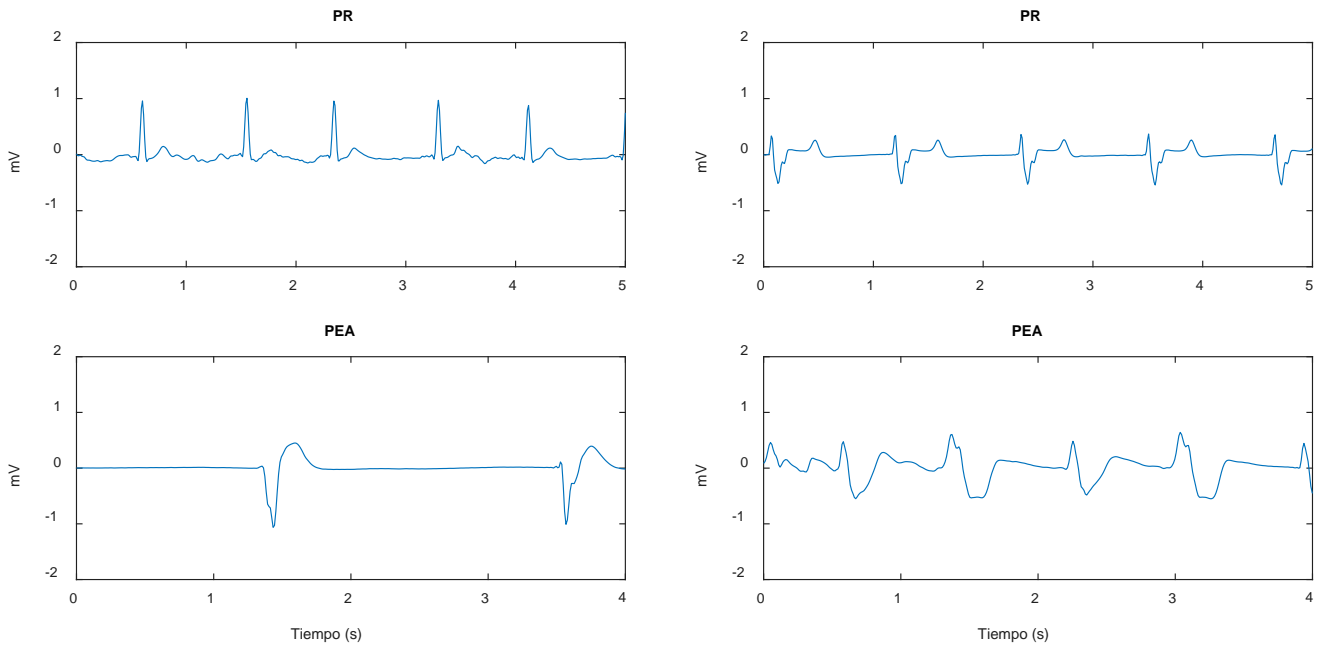


Figura 1. Ejemplos de ritmos PR y PEA

conjuntos con pacientes disjuntos: la base de entrenamiento (1871 PR y 1167 PEA) y la de testeo (501 PR y 375 PEA).

La Figura 1 muestra varios ejemplos de ritmos PR y PEA. En general, los ritmos PR se caracterizan por una mayor frecuencia cardíaca y unos complejos QRS más estrechos que en los ritmos PEA.

3. Métodos

La señal de ECG se filtró entre 0.5 y 30 Hz, para reproducir el ancho de banda de los desfibriladores actuales. Después, se remuestreó a 100 Hz.

En este trabajo se evalúan tres arquitecturas de aprendizaje profundo que se detallan a continuación.

3.1. Arquitectura 1: CNN

La primera solución es una red convolucional (CNN), cuya estructura se resume en la Tabla 1.

Como método para conseguir incrementar la variabilidad de las señales disponibles, el primer paso es añadir ruido gaussiano de media cero y desviación estándar σ a la señal. Este proceso se da solamente durante la fase de entrenamiento y es útil para evitar el sobreajuste de la red.

Las capas convolucionales aplican a la señal n diferentes filtros de orden m para obtener descriptores de alto nivel del ECG. La segunda capa es la primera capa convolucional, que aplica 16 filtros de orden 4 y una función de activación RELU (unidad lineal rectificadora) en la salida.

La tercera capa realiza la compresión temporal del ECG para reducir el número de características. En nuestro caso hemos utilizado una capa *max-pooling*, la cual remuestrea la señal cogiendo el máximo valor de cada 3 muestras.

La cuarta capa, *dropout*, está presente sólo en la fase de entrenamiento. Esta capa anula ciertas unidades con cierta probabilidad, lo que permite que la red actúe como un conjunto de clasificadores simultáneos [10].

La quinta capa es otra capa convolucional. Utilizar varias capas convolucionales es una práctica común para extraer características cada vez más complejas. La salida se vuelve a remuestrear y se le aplica *dropout* otra vez (capas 6 y 7).

La última capa es la etapa de clasificación. Mediante las características obtenidas se realiza la clasificación utilizando una sola neurona con la función de activación de sigmoide. A la salida de esta neurona se obtiene la probabilidad de que el segmento sea PR.

# capa	Tipo	Parámetros
1	Ruido gaussiano	$\sigma=0.01$
2	Convolucional	$n=16, m=4$
3	Max-pooling	3
4	Dropout	0.4
5	Convolucional	$n=8, m=4$
6	Max-pooling	3
7	Dropout	0.4
8	Dense	-

Tabla 1. Estructura de la primera arquitectura propuesta

3.2. Arquitectura 2: RNN

Las redes recurrentes (RNN) son capaces de exhibir el comportamiento temporal dinámico de una secuencia, por lo que son muy adecuadas para el procesamiento de ECG. La estructura de la arquitectura propuesta se resume en la Tabla 2.

Al igual que en la anterior solución, la primera capa se encarga de añadir ruido blanco a la señal durante el proceso de entrenamiento para evitar que se sobreajuste.

La segunda capa es una capa GRU (*Gated Recurrent Unit*), una versión simplificada del clásico LSTM [11] (*long short-term memory*) con una precisión similar, y son capaces de aprender dependencias temporales de largo plazo [12]. En nuestra solución hemos utilizado GRUs bidireccionales, de tal modo que puedan aprender las dependencias temporales hacia delante y hacia atrás. El único parámetro es la cantidad de unidades de cada una.

Tras la primera capa recurrente se aplica *dropout* y se aplica otra capa recurrente que reduce el número de características antes de la etapa de clasificación.

# capa	Tipo	Parámetros
1	Ruido gaussiano	$\sigma=0.01$
2	GRU bidireccional	24 + 24
3	Dropout	0.25
4	GRU bidireccional	4 + 4
5	Dropout	0.4
6	Dense	-

Tabla 2. Estructura de la segunda arquitectura propuesta

3.3. Arquitectura 3: CNN + RNN

La tercera arquitectura propuesta (Tabla 3) combina capas recurrentes y capas convolucionales. Primero se aplican varias capas convolucionales para la extracción de descriptores de alto nivel. Después se utiliza una GRU bidireccional para exhibir el comportamiento temporal de la señal, y por último las características extraídas por estas capas son utilizadas para clasificar el segmento como PR o PEA.

# capa	Tipo	Parámetros
1	Ruido gaussiano	$\sigma=0.01$
2	Convolutacional	$n=16, m=4$
3	Max-pooling	3
4	Dropout	0.4
5	Convolutacional	$n=8, m=4$
6	Max-pooling	3
7	Dropout	0.4
8	GRU bidireccional	4 + 4
9	Dropout	0.4
10	Dense	-

Tabla 3. Estructura de la tercera arquitectura propuesta

3.4. Parámetros de entrenamiento

Todos los experimentos se han desarrollado utilizando el paquete Keras [13]. Para evitar el sobreajuste, las capas

convolucionales y las capas recurrentes se han entrenado con la limitación de máxima norma, la norma de los pesos no podía exceder el valor de 4. Esta técnica es especialmente útil cuando se utiliza el *dropout* [10].

Todas las redes se han entrenado utilizando el optimizador Adam con los parámetros por defecto [13] y se han escogido 150 épocas. Para entrenar la red todos los pacientes se pesan equitativamente.

3.5. Evaluación de los modelos

Los modelos son evaluados en términos de sensibilidad (SE, probabilidad de detectar correctamente los ritmos PR), especificidad (SP, probabilidad de detectar correctamente los ritmos PEA) y precisión balanceada (BAC, media aritmética entre SE y SP). Para calcular todas las métricas de rendimiento todos los pacientes se pesan equitativamente.

4. Resultados

La SE, SP y BAC de cada modelo para la base de entrenamiento y la base de testeo se muestran en la Tabla 5. Puede observarse que los mejores resultados en términos de BAC para la base de testeo son obtenidos por la tercera arquitectura.

	Entrenamiento			Testeo		
	SE	SP	BAC	SE	SP	BAC
CNN	92.7	99.3	96.0	91.3	91.1	91.2
RNN	96.7	99.1	97.6	91.3	91.1	91.2
CNN+RNN	95.8	96.8	96.3	94.2	91.0	92.6

Tabla 4. Resultados obtenidos para las tres arquitecturas en la base de entrenamiento y en la base de testeo

5. Discusión y conclusiones

La detección de pulso sigue siendo una tarea difícil en la parada cardíaca extrahospitalaria tanto para el personal lego como para profesionales. En este trabajo se propone utilizar técnicas de aprendizaje profundo para la detección del pulso utilizando solamente el ECG. Esto permite el uso universal del algoritmo en los DEA, ya que la adquisición del ECG es necesaria para analizar el ritmo del paciente.

Se han probado tres arquitecturas diferentes: CNN, RNN y CNN+RNN. La tercera ha demostrado la mejor precisión en la base de testeo, siendo la diferencia de BAC 3.7% entre las bases de entrenamiento y testeo. Durante la fase de entrenamiento la red recurrente ha demostrado ser la más eficiente, pero el BAC baja 6.5 puntos en la base de testeo. Utilizar más datos, ajustar mejor los términos de regularización y utilizar técnicas de crecimiento de datos podría permitir reducir la diferencia de eficiencia que hay entre la base de entrenamiento y la base de testeo.

Los resultados obtenidos mediante técnicas de aprendizaje profundo (SE/SP=94.2%/91.0%) superan los reportados por técnicas de aprendizaje automático (SE/SP=90.7%/87.5%) exclusivamente con el ECG [14]. El rendimiento es además comparable al reportado por métodos que combinaban parámetros del ECG y de la

impedancia [5], [6], para los que el BAC era del 92%. Nuestra solución sólo se basa en el ECG y eso permite su uso universal en DEAs.

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), de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea mediante la ayuda a grupos de investigación GIU17/031, y del Gobierno Vasco a través de la beca PRE_2017_1_0112.

Referencias

- [1] J. Soar *et al.*, «European resuscitation council guidelines for resuscitation 2015: section 3. Adult advanced life support», *Resuscitation*, vol. 95, pp. 100–147, 2015.
- [2] B. Eberle, W. Dick, T. Schneider, G. Wisser, S. Doetsch, y I. Tzanova, «Checking the carotid pulse check: diagnostic accuracy of first responders in patients with and without a pulse», *Resuscitation*, vol. 33, n.º 2, pp. 107–116, 1996.
- [3] M. Ruppert *et al.*, «Checking for breathing: evaluation of the diagnostic capability of emergency medical services personnel, physicians, medical students, and medical laypersons», *Ann. Emerg. Med.*, vol. 34, n.º 6, pp. 720–729, 1999.
- [4] J. Tibballs y P. Russell, «Reliability of pulse palpation by healthcare personnel to diagnose paediatric cardiac arrest», *Resuscitation*, vol. 80, n.º 1, pp. 61–64, 2009.
- [5] E. Alonso *et al.*, «Circulation detection using the electrocardiogram and the thoracic impedance acquired by defibrillation pads», *Resuscitation*, vol. 99, pp. 56–62, 2016.
- [6] M. Risdal, S. O. Aase, J. Kramer-Johansen, y T. Eftesol, «Automatic identification of return of spontaneous circulation during cardiopulmonary resuscitation», *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 55, n.º 1, pp. 60–68, 2008.
- [7] J. M. Ruiz *et al.*, «Circulation assessment by automated external defibrillators during cardiopulmonary resuscitation», *Resuscitation*, vol. 128, pp. 158-163, jul. 2018.
- [8] O. Faust, Y. Hagiwara, T. J. Hong, O. S. Lih, y U. R. Acharya, «Deep learning for healthcare applications based on physiological signals: a review», *Comput. Methods Programs Biomed.* pp. 1-13, 2018.
- [9] A. Picon *et al.*, *Detección de fibrilación ventricular mediante técnicas de aprendizaje profundo*. CASEIB 2017: XXXV Congreso anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica: Libro de actas, Bilbao 29 de Noviembre-1 de Diciembre, pp. 3-6, 2018.
- [10] N. Srivastava, G. Hinton, A. Krizhevsky, I. Sutskever, y R. Salakhutdinov, «Dropout: A simple way to prevent neural networks from overfitting», *J. Mach. Learn. Res.*, vol. 15, n.º 1, pp. 1929–1958, 2014.
- [11] S. Hochreiter y J. Schmidhuber, «Long short-term memory», *Neural Comput.*, vol. 9, n.º 8, pp. 1735–1780, 1997.
- [12] J. Chung, C. Gulcehre, K. Cho, y Y. Bengio, «Empirical evaluation of gated recurrent neural networks on sequence modeling», *ArXiv Prepr. ArXiv14123555*, 2014.
- [13] F. Chollet *et al.*, *Keras*. 2015.
- [14] A. Elola *et al.*, *Detección del retorno de la circulación espontánea en base al electrocardiograma*. CASEIB 2016: XXXIV Congreso anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica: Libro de actas, Valencia 23-25 de Diciembre, pp. 560-563, 2016 .

Estudio de la Fibrilación Auricular en pacientes con Miocardiopatía Hipertrófica mediante técnicas de Análisis Multivariante

P. Sánchez López¹, A. González Cebrián¹, J.M. Prats Montalbán¹, V. Donoso Trenado², D. López Cuenca³, J.R. Gimeno Blanes³, E. Zorio Grima², A. Ferrer Riquelme¹

¹Grupo de Ingeniería Estadística Multivariante (GIEM), Departamento de Estadística, I.O. Aplicadas y Calidad (DEIOAC), Universitat Politècnica de València, Valencia, España, pausanlo@etsii.upv.es, aferrer@eio.upv.es

²CAFAMUSME, Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) La Fe del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (HULPF), Valencia, España, zorio_est@gva.es

³Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Unidad de Cardiopatías Familiares, Servicio de Cardiología del Hospital Virgen de la Arrixaca, Murcia, España jgimeno@secardiologia.es

Resumen

Este trabajo supone el primer paso para la obtención de un score de riesgo específico para predecir la probabilidad de desarrollo de fibrilación auricular (FA) en pacientes con miocardiopatía hipertrófica (MCH). Para ello se ha confeccionado una base de datos con información clínica, genética, así como de biomarcadores de electrocardiograma (ECG) y de imagen de resonancia magnética (RMN) del corazón. Mediante un análisis estadístico multivariante predictivo basado en mínimos cuadrados parciales (PLS) se pretende encontrar relaciones entre los parámetros registrados y la variable respuesta (padece o no FA). Además de permitir el análisis simultáneo de relaciones entre los propios predictores y de estos con la variable respuesta, el modelo obtenido puede emplearse en última instancia para predecir si un paciente, dados ciertos parámetros, padecerá o no un episodio de FA y su grado de afectación. Los resultados obtenidos han ilustrado el gran potencial del uso del PLS para la comprensión de los factores que afectan a esta patología, lo que puede ayudar a mejorar la gestión de los pacientes afectados por ella.

1. Motivación

El proyecto pretende dar respuesta a la necesidad de acción precoz frente a la FA, que es la arritmia sostenida más frecuente en población general, y se caracteriza por la pérdida del sincronismo en la contracción auricular. Se pretende calcular un score para pacientes con MCH que cuantifique, en base a variables de distinta naturaleza, el riesgo de padecer FA.

Las consecuencias de la FA son muy invalidantes y acarrear un alto coste social y económico. Esta arritmia es a su vez un factor de riesgo de fallos tromboembólicos, por lo que conocer el riesgo de padecerla implica también capacidad de previsión frente a complicaciones embólicas. En pacientes con MCH esta arritmia suele acontecer más y antes que en población general, siendo las repercusiones en su calidad de vida más dramáticas y prolongadas en el tiempo. Las actuales guías de práctica clínica recomiendan anticoagulación indefinida en todos los pacientes con MCH y FA. Sin embargo, en la actualidad no existe una escala de riesgo específica para pacientes con MCH que

permita identificar a los que tienen más riesgo de desarrollar FA y por tanto, un episodio embólico [1].

Lo cierto es que el diagnóstico de la FA es difícil dada su presentación intermitente. Incluso con las líneas de tratamiento establecidas, hasta el 15% de los pacientes con MCH e ictus reciben el diagnóstico de FA tras haber sufrido un ictus. Además, es sabido que la anticoagulación oral crónica no está exenta de coste económico y potenciales complicaciones hemorrágicas, por lo que su prescripción debería hacerse de forma individualizada.

Existe, por tanto, un gran interés en identificar marcadores precoces del riesgo de desarrollar FA en pacientes con MCH. De esta forma, podría iniciarse la anticoagulación antes de documentar la arritmia, evitando así las consecuencias de una embolia sistémica en pacientes sin criterios de anticoagulación según las guías actuales.

Por todo lo expuesto, se propone en este proyecto el primer paso para la configuración de un score de riesgo que permita predecir el riesgo de padecer un episodio embólico. De confirmarse su capacidad predictiva, podría incorporarse a las guías de práctica clínica por la mejora que supondría en el diagnóstico de las arritmias y en el seguimiento y tratamiento de los pacientes con MCH.

2. Introducción

La prevalencia de la FA varía en función de las características de los pacientes con MCH. Los principales factores de riesgo de FA en sujetos con MCH descritos en la bibliografía son [2]:

- Elementos genéticos. Mutaciones que afectan a distintas proteínas (MYH7, ACE) se han mostrado correlacionadas con la prevalencia de FA en población con MCH.
- Edad avanzada. La incidencia de FA en pacientes de menos de 50 años es de 4.3%, mientras que en mayores de 60 es del 13% [3].
- Obstrucciones respiratorias y cardíacas. El empeoramiento de la insuficiencia cardíaca o la morfología obstructiva, en concreto la

obstrucción del ventrículo izquierdo (VI), se ha asociado con un mayor riesgo de FA.

- Tamaño de la aurícula izquierda (AI). El aumento de las dimensiones (en volumen y diámetro) de la AI se ha relacionado con un mayor riesgo de FA.
- Dimensiones del lado derecho. Un mayor tamaño de la aurícula derecha, así como una reducción del plano anular de la válvula tricúspide, se han relacionado con el desarrollo de FA.

Aunque se conoce la clara influencia de los factores de riesgo mencionados, hasta el momento todos los individuos con MCH y FA poseen un alto riesgo de tromboembolia. El tratamiento con anticoagulantes es la opción aconsejada en las guías clínicas actuales, independientemente de las particularidades individuales en lo referente a los factores de riesgo.

La individualización del tratamiento es un frente abierto que depende directamente de la capacidad para cuantificar fiablemente el riesgo de sufrir un episodio embólico. No obstante, pese a conocer las correlaciones entre dichos sucesos y las características de los pacientes, la gran heterogeneidad dentro de las muestras empleadas en los estudios que abordan este tema, reproduce esa falta de homogeneidad en los resultados obtenidos. Por tanto, sigue siendo costosa la cuantificación del riesgo de tromboembolia en cuadros con MCH y FA en base a criterios globalmente compartidos.

Desde una perspectiva estadística, el estado actual de este reto supone el análisis de grandes bases de datos con variables de muy distinta naturaleza y con una compleja estructura de correlación.

Las técnicas de análisis multivariante basadas en variables latentes aprovechan esas relaciones entre variables originales para definir un nuevo espacio definido por nuevas variables, llamadas variables latentes, construidas como combinaciones lineales de las variables originales. Observar las relaciones entre la presencia o no de FA y parámetros del paciente recogidos antes del episodio de fibrilación, es un claro avance hacia la concreción de las variables importantes para la estratificación de pacientes con MCH según su riesgo de presentar FA.

Para el desarrollo de modelos predictivos y de clasificación pueden también usarse técnicas estadísticas clásicas como la regresión lineal o la logística, así como otras propias de la inteligencia artificial que pueden modelar de forma eficiente fuertes no linealidades. La limitación de estas técnicas en problemas como el abordado en este trabajo es que al trabajar en el espacio de las variables originales fuertemente correlacionadas pueden proporcionar muchos modelos distintos con buenas propiedades predictivas, pero sin capacidad de poder ser interpretables.

3. Materiales y métodos

3.1. Descripción de la base de datos

La base de datos empleada para realizar este trabajo está constituida por datos obtenidos de pacientes antes de tener un episodio de Fibrilación Auricular. El conjunto de predictores contiene parámetros morfológicos del corazón

medidos con imágenes de ecografía y RMN, además de parámetros clínicos (talla, sexo, etc.), varios marcadores genéticos asociados a la MCH, y características extraídas del ECG de cada paciente. En conjunto se tienen 70 pacientes y 50 variables.

La variable respuesta es en este caso de tipo categórico, correspondiendo a cuatro niveles de afectación de la FA observada al cabo del tiempo: 1 (ritmo sinusal, sin arritmia), 2 (FA paroxística de menos de 24 horas), 3 (FA persistente durante más de 24 horas) y 4 (FA crónica).

3.2. Técnicas estadísticas para el análisis de los datos.

En este trabajo se ha optado por el uso del análisis estadístico multivariante predictivo de proyección sobre estructuras latentes basado en mínimos cuadrados parciales (*Partial Least Squares, PLS*) [4]. Esta técnica permite relacionar el subconjunto de variables de entrada o predictoras (almacenadas en la matriz X) con el subconjunto de variables de salida o respuestas (almacenadas en la matriz Y) mediante un modelo lineal multivariante. A diferencia de las técnicas clásicas de regresión, permite analizar bases de datos con muchas variables predictoras (incluso más variables que observaciones) fuertemente correlacionadas, con ruido, y modelar su relación con varias variables respuesta en un único modelo. PLS modela no solo la relación entre ambos espacios sino también cada uno de ellos, por lo que a pesar de que las variables estén fuertemente correlacionadas proporciona modelos únicos e interpretables a través del subespacio latente.

Matemáticamente esto se consigue proyectando las matrices X e Y sobre dos subespacios W y C , respectivamente, de forma que las variables latentes resultantes (almacenadas en las columnas de las matrices de scores T y U , respectivamente) tengan máxima covarianza, es decir, fuentes de variabilidad en ambos espacios (X e Y) correlacionadas. El número de variables latentes encontradas suele ser muy inferior al número de variables X originales, por lo que el PLS se considera también como una técnica predictiva de reducción de la dimensionalidad.

La relación entre las variables X e Y no se hace directamente (como en el caso de los modelos de regresión lineal o de técnicas supervisadas de inteligencia artificial) sino mediante la relación interna entre los scores T y U . Esta relación se visualiza en el espacio latente a través de los coeficientes (*weightings*) de las matrices W y C . Variables X relacionadas con variables Y tendrán altos valores absolutos de dichos *weightings* en el subespacio latente.

El modelo PLS también puede expresarse en función de las variables explicativas originales (como en un modelo de regresión clásico) usando para ello la matriz de coeficientes B_{PLS} .

El modelo PLS también proporciona los coeficientes de bondad de ajuste (R^2) y de predicción (Q^2). Ambos son parámetros que fluctúan entre 0 a 1 y permiten cuantificar distintos aspectos del desempeño de cada modelo.

El modelo PLS aplicado a la base de datos objeto de estudio obtiene relaciones entre el grado de FA de un paciente y los parámetros recogidos tiempo atrás, lo que permitiría su uso como modelo predictivo de la FA que podría presentar un paciente en el futuro. Además, también permite confirmar las correlaciones conocidas entre factores de riesgo y descubrir otras nuevas, ayudando a comprender mejor el mecanismo de estas patologías.

Puesto que en este caso la variable respuesta es categórica (grado de afectación de la FA), se ha empleado PLS-DA (PLS-Discriminant Analysis), una variante del PLS adaptada para la clasificación.

4. Resultados

Tal y como se ha comentado, PLS puede usarse no solo como modelo predictivo, sino además como herramienta para comprender la compleja estructura de correlación entre las variables estudiadas. Con ambos objetivos en mente se comentan a continuación los resultados más concluyentes en base a los modelos obtenidos. Dado el desequilibrio entre los pacientes de cada tipo (37 grado 1, 14 de grado 2, 7 de grado 3 y 12 de grado 4), se optó por reagrupar a los pacientes en dos clases: una que contiene individuos con ritmo sinusal y FA paroxística (clase 0: baja afectación), y otra con pacientes con FA persistente y crónica (clase 1: alta afectación).

Tras realizar un autoescalado de los datos, el modelo obtenido finalmente para discriminar entre ambas clases tiene una única componente ($R^2 = 0,51$ y $Q^2 = 0,35$). Una vez estudiada la posible existencia de datos atípicos, se fuerza una segunda componente para visualizar mejor la clasificación obtenida por el modelo. En el gráfico de *scores* (Figura 1) pueden observarse las agrupaciones de los individuos en dos claros grupos correspondientes a la distinción en función del grado de afectación de la FA.

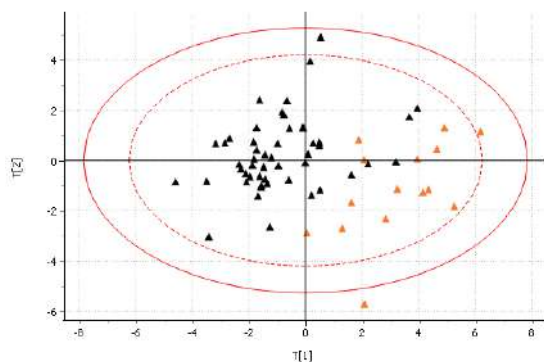


Figura 1. Gráfico de scores con los valores de los individuos proyectados en el espacio latente obtenido por el modelo PLS: negro (baja afectación) y naranja (alta afectación).

El gráfico de *weightings* (Figura 2) permite interpretar las relaciones entre las variables predictoras y las clases del modelo. Las relaciones son más claras cuanto más alejadas están las variables del centro del gráfico (*weightings* mayores en valor absoluto). La correlación entre variables predictoras y clases es positiva si las variables caen cerca de las clases, y negativas si caen en las antípodas.

De este modo, puede observarse que valores altos /superiores a su media en variables referentes al tamaño

auricular (AI, A2c y A4c) aumentan la probabilidad de tener FA de tipo 3 o 4, ya que caen cerca de la clase 1 de la variable respuesta. Otros predictores relacionados con el riesgo de padecer FA con MCH pueden encontrarse en la misma región del gráfico (edad, valores de los intervalos RR atípicos, etc.).

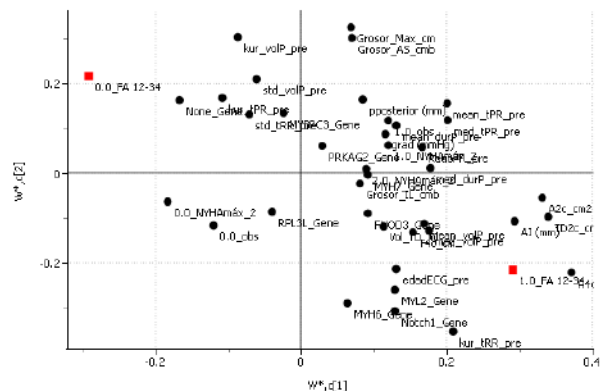


Figura 2. Gráfico de *weightings* con los pesos de las variables (X en negro, clases en rojo) en la 1ª y 2ª componente.

Otro aspecto que se pone de manifiesto en el gráfico de *scores* (Figura 1) es la gran variabilidad entre pacientes con baja afectación FA (color negro). Al colorear cada paciente según su grado de FA (de 1 a 4), puede verse que son los individuos con ritmo sinusal (en negro) los que mayor dispersión presentan (Figura 3).

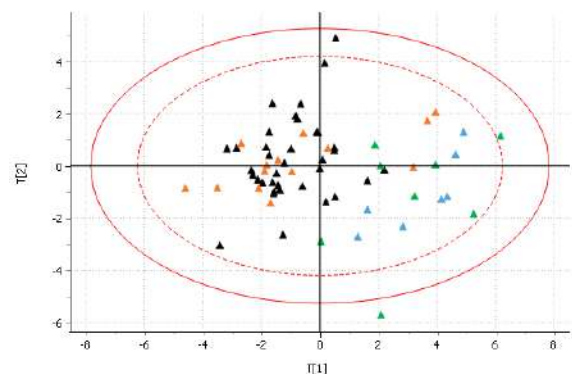


Figura 3. Gráfico de scores de la Figura 1 coloreado con los 4 grados de afectación de FA: negro (ritmo sinusal), naranja (FA paroxística), verde (FA persistente) y azul (FA crónica).

Al comparar mediante los gráficos de contribución dos individuos con ritmo sinusal en extremos opuestos de la primera componente, se observa que hay una gran diferencia entre variables ampliamente conocidas por ser factores de riesgo de FA, como las dimensiones de la aurícula, el grosor de la pared, el grado de disnea y la duración PR (relacionada con la conducción auriculoventricular). El perfil de las diferencias es similar para dos pacientes con FA paroxística en extremos opuestos de la primera componente.

Por otro lado, al analizar diferencias entre observaciones cercanas en el *score plot* pero pertenecientes a distinto grado de FA, se observan diferencias esencialmente en los valores del tamaño auricular obtenidos con imágenes a cuatro cámaras (A4).

Un análisis de los coeficientes *jackknife* B_{PLS} permite observar qué variables son finalmente las que influyen en mayor medida para determinar el grupo de riesgo al que pertenece un paciente. Valores altos de los coeficientes aumentan en este caso la probabilidad de pertenencia a cierta clase. De esa forma, para la clase 1 (Figura 4), valores altos (superiores a su media) en las variables con coeficientes **b** positivos (y estadísticamente significativos), se relacionan positivamente con la gravedad de FA, mientras que valores altos de variables con coeficientes **b** negativos reducen el riesgo de ser de la clase 1.

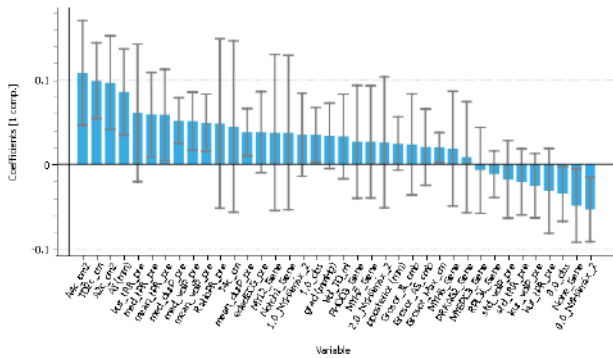


Figura 4. Gráfico con los coeficientes *jackknife* para la clase 1 (FA persistente o crónica) del modelo PLS obtenido.

Como puede observarse, pacientes que tengan valores altos para las variables A4c, TD2, A2c, AI y tiempo del segmento PR, tienen mayor probabilidad de padecer FA persistente o crónica, de acuerdo con el modelo obtenido. De forma análoga, tener un grado bajo de obstrucción, no presentar ningún gen de los estudiados y tener un grado bajo de disnea, disminuyen la probabilidad de una FA persistente o crónica.

Cualquiera de estas relaciones puede visualizarse con diagramas de dispersión. La Figura 5 muestra uno de estos diagramas para visualizar la relación entre A4c y TD2 y el riesgo de padecer una alta o baja afectación por FA.

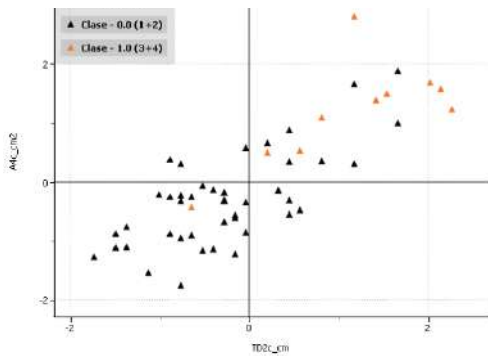


Figura 5. Diagrama de dispersión entre A4c y TD2: negro (baja afectación) y naranja (alta afectación).

5. Conclusiones

El objetivo del trabajo es profundizar en el conocimiento sobre la incidencia de fibrilación auricular en pacientes con miocardiopatía hipertrófica. Dada la mayor incidencia de FA en pacientes con MCH, un mayor riesgo de fallo tromboembólico está asociado a estos pacientes y el uso de anticoagulantes es la recomendación estándar de las guías clínicas. Teniendo en cuenta este escenario, se ha hecho

uso de modelos PLS para relacionar distintos predictores (variables clínicas, de imagen cardíaca con RM, actividad bioeléctrica, marcadores genéticos, etc.) con el grado de FA presentado por los pacientes tiempo después de la toma de dichas constantes, de forma que se puedan tomar decisiones más ajustadas al cuadro clínico de cada paciente.

El modelo final obtenido ha sido capaz de encontrar aquellos predictores que mejor permiten discriminar entre una FA de menor gravedad (inexistente o paroxística) de una mantenida o crónica. Mediante los diagramas de *weightings* se han corroborado relaciones estudiadas en artículos previos disponibles en la literatura del campo. Variables relacionadas con el tamaño de las aurículas, pero también con la duración del segmento PR (relacionado con la conducción auriculoventricular) y con la irregularidad de los intervalos RR (representado mediante la curtosis del intervalo RR), han sido señaladas como importantes por el modelo obtenido.

Dado el bajo tamaño de muestra y el desequilibrio entre el número de pacientes con distintos grados de FA, la bondad de ajuste y predicción del modelo PLS no es suficiente para usar este modelo como herramienta de clasificación. Además, varios marcadores genéticos estaban presentes en únicamente uno o dos pacientes, lo que ha dificultado analizar en detalle la importancia de la componente genética del modelo. Así pues, ampliar la base de datos y hacer uso de técnicas estadísticas que permiten modelar relaciones más complejas entre variables (como kernel-PLS, Máquinas de Soporte Vectorial o *Random Forest* [5], [6]), son claras líneas futuras que permitirían mejorar el desempeño del modelo, confirmar las conclusiones extraídas, y profundizar en el estudio de los factores de riesgo para pacientes con MCH y FA, así como analizar fenómenos observados como la heterogeneidad entre pacientes con ritmo sinusal o FA paroxística.

Referencias

- [1] O. P. Guttman *et al.*, «Predictors of atrial fibrillation in hypertrophic cardiomyopathy», *Heart*, vol. 103, n.º 9, pp. 672-678, 2016.
- [2] C. F. Camm y A. J. Camm, «Atrial Fibrillation and Anticoagulation in Hypertrophic Cardiomyopathy», *Arrhythmia Electrophysiol. Rev.*, vol. 6, n.º 2, pp. 63-8, 2017.
- [3] M.-A. Losi *et al.*, «Determinants of atrial fibrillation development in patients with hypertrophic cardiomyopathy», *Am. J. Cardiol.*, vol. 94, n.º 7, pp. 895-900, oct. 2004.
- [4] 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.
- [5] B. Üstün, W. J. Melssen, y L. M. C. Buydens, «Visualisation and interpretation of Support Vector Regression models», *Anal. Chim. Acta*, vol. 595, n.º 1-2, pp. 299-309, jul. 2007.
- [6] A. Liaw y M. Wiener, «Classification and Regression by randomForest», vol. 23, 2002.

ÍNDICE DE AUTORES

A

Abella, M.	15
Acha, B.	349
Aguado, A. M.	299
Agudo, E.	213
Alberdi, A.	267, 271
Alberich-Bayarri, A.	21
Alberola-López, C.	3
Alberola-Rubio, J.	165, 335
Alcaraz, R.	103, 107, 115
Alfieri, D.	221
Alonso, E.	375
Álvarez, D.	249
Álvarez, M.	191
Álvarez-Rodríguez, J.	47, 227
Aragón-Basanta, E.	155
Aramendía-Vidaurreta, V.	7
Aramendi, E.	93, 375
Arana, S.	245
Arbide, N.	221
Arce-Diego, J. L.	217, 231
Arnau, M. A.	339
Artola, G.	271
Atienza, F.	119

B

Bachiller, P.	71
Bailón, R.	97, 111
Bain, J.	221
Barrenechea, M.	267, 271
Barroso-García, V.	249
Bastarrika, G.	7
Battisti, M.	371
Belda-Lois, J. M.	155
Bellino, G.	371
Benalcazar-Parra, C.	335
Benito, A.	323
Benítez, R.	291
Bermejo-Peláez, D.	33, 307
Blanco, F.	57
Blanco, J.	287
Borràs, M.	295
Bosch, I.	21
Bote-Curiel, L.	221
Bueno, A.	21
Bueno, G.	353, 361

Bustos, P.	71
------------	----

C

Caffarena, G.	311
Callejón, M. A.	141, 207
Calvo, G.	311
Camara, O.	299
Camba, D.	235
Cambrodi, R.	295
Campisi, J.	245
Campos-Blanco, A.	39
Cano, J.	137
Carnero, M. C.	51
Carreres, J.	21
Carro, J.	125
Casanova, O.	213
Caulier-Cisterna, R.	85
Cerpa, A.	323
Ceruelo, S.	191
Chacón-Solano, E.	275
Chil, R.	261
Chinellato, E.	267
Chmarra, M. K.	175
Cicchi, R.	221
Clariá, F.	295
Climent, A. M.	119
Cobo, A.	65, 199
Colomer, A.	345, 357
Conti, C. J.	275
Costa, V.	89
Costoya, A.	119
Crestelo-Moreno, F.	145
Cretu, C.	261
Crispi, F.	111

D

Dankelman, J.	175
Davis, M.	235
Díaz-Carnicero, J.	43
de Felipe, A.	335
de la Cruz, J. E.	129
de los Reyes, A.	191, 203
de Potter, T.	299
de Vargas, G.	213
del-Ama, A. J.	151, 155
del Campo, F.	249
del Pozo, F.	199

del Río, M.	275	Gómez, A.	51
Deniz, O.	353, 361	Gómez, C.	195, 241
Descò, M.	15, 261	Gómez, E. J.	161, 175, 235
di Noia, F.	221	Gómez-Gómez, E.	231
Di Stasi, L. L.	145	Gómez, J. C.	129, 185
Donoso, V.	379	Gomis-Tena, J.	137
E		González, A.	275, 379
Elola, A.	375	González del Río, R.	279
Errarte, A.	271	Gozal, D.	249
Escobar, F.	339	Guerrero, J.	371
Esparza, M.	107	Guerrero, S.	275
Esteban, F. M.	57, 71	Guerrón, N.	65, 199
Estradé, S.	287	Guillem, M. S.	119
Estrada, L. C.	367	Gutiérrez, A.	319
Expósito, A.	217	Gutiérrez, D.	175
F		Gutiérrez, G. C.	249
Fajas-Majó, A.	287	Gutiérrez, L.	11
Fanjul-Vélez, F.	217, 231	Gutiérrez-Martín, A.	151, 203
Fernández, A.	299	Guzmán-García, C.	175
Fernández-Seara, M. A.	7	H	
Ferrer, A.	379	Hübner, T.	75
Filguieras-Rama, D.	11	Hernando, D.	97
Franco, P.	207	Hernando, M. E.	39, 75
Freixa, X.	299	Hernández-Lorca, M.	271
G		Hernández, R.	253
Galella, S.	303	Hornero, R.	25, 29, 61, 195, 241, 249
Gallego, J.	361	I	
Garatachea, N.	97	Iniesta-Chamorro, J. M.	39, 75
García-Alberola, A.	85	Irusta, U.	93, 375
García-Carmona, R.	311, 315	Isasi, I.	93
García-Casado, J.	165, 335	Isusquiza, E.	271
García-León, D.	11	Izeta, A.	327
García, M.	25, 29, 103, 275	Izquierdo, F. J.	39
García-Morata, F. J.	345, 357	J	
García-Ojalvo, J.	303	Jané, R.	367
García-Osés, A.	7	Jauregui, R.	283
García-Pardo, J. G.	345, 357	Jiménez, J.	25, 29
García-Sáez, G.	39, 75	Juhos, K.	175
Garrido, J.	97	K	
Genua, I.	299	Kheirandish-Gozal, L.	249
Gil-Agudo, A.	151, 191, 203	L	
Gimeno, J. R.	379	Laguna, P.	111
Giménez, M.	33, 307		
Glover, B.	221		

Larcher, F.	275	Negoita, A.	175
Larraga-García, B.	151	Nevárez, A.	257
Ledesma-Carbayo, M. J.	33, 307	Nir, S.	181
Lejardi, A.	253	Nohales, F. J.	165
Lérida-García, J.	47, 227	Noorda, R. A.	257
Liberos, A.	119	Noriega-Casuso, S.	231
Lizarbe-Sancha, S.	245	Nuevo, M.	283
Llopis-Lorente, J.	137	Núñez-García, M.	299
López, D.	379	Núñez, P.	57, 71, 195, 241
López, J.	161		
López-Laval, I.	97	O	
López, M. I.	25, 29	Olaizola-Rodrigo, C.	331
López-Saratxaga, C.	221	Olivares, A. L.	299
Lozano-Berrio, V.	151	Olsen, J. A.	93
Lozano, V.	191	Ontiveros-Ravel, J. A.	161
M		Opisso, E.	161
Mancha, E.	129, 185	Oropesa, I.	175, 235
Martinena, E.	57, 71	Ortega, J. F.	171, 221
Martín, C.	65	Ortigosa, N.	111
Martín, M.	319	Ortuño, J. E.	33, 307
Martín-Montero, A.	241, 249	P	
Martínez-Agüero, S.	47, 227	Pagador, J. B.	57, 71, 129, 185, 221
Martínez, C.	15	Palacio, L. C.	133
Martínez-Cagigal, V.	61	Pavone, F. S.	221
Martínez de Apellániz, I.	245	Pedraza, A.	353
Martínez, I.	315	Peiró, F.	287
Martínez-Iniesta, M.	115	Perales, A.	335
Maturana-Candelas, A.	195, 241	Perea, M.	107
McVeigh, E. R.	33, 307	Pérez-Benito, D.	261
Mijangos, C.	253	Pérez-Gandía, C.	39, 75
Mill, J.	299	Pérez, V.	291
Mir, M.	287	Picón, A.	221, 375
Mitxelena-Iribarren, O.	245, 331	Plancha, E.	107
Monasterio, V.	125	Polo, F.	221
Monteiro-Pereira, R.	367	Pons, P.	257
Mora-Jiménez, I.	47, 227	Pons, V.	257
Moya-Sáez, E.	3	Poza, J.	195, 241, 249
Moyano-Cuevas, J. L.	57, 71	Prat, S.	283
Mujika, M.	245	Prats-Boluda, G.	165, 335
Muñoz-Barrutia, A.	279	Prats, J. M.	379
Muñoz, J.	79	Prieto, I.	327
Muñoz-Romero, S.	85	Pueyo, E.	125
N		Puig, M.	283
Naranjo, V.	257, 345, 357	R	
Narayan, S. M.	119	Ramos, M.	213

Ramírez, O.	89	Sepúlveda, A.	111
Raya, R.	89	Sepúlveda, D.	203
Reches, M.	181	Serrano, C.	349
Reina, J.	141, 207	Serrano, J.	65, 199, 213
Rieta, J. J.	103, 107, 115	Silva, E.	299
Roca-González, J.	145	Soguero-Ruiz, C.	47, 227
Roca-González, J. L.	145	Solesio-Jofre, E.	271
Ródenas, J.	103, 115	Solleder, P.	221
Rodríguez, D.	283	Soria, F.	129
Rodríguez-González, V.	195, 241	Soriano, I.	161
Rodríguez-López, M.	111	Suardíaz-Muro, J.	145
Rodríguez, M.	235	Suárez, A.	349
Rodríguez-Matas, J. F.	125	Swiderska-Chadaj, Z.	361
Rodrigo, M.	119		
Rojo-Álvarez, J. L.	85	T	
Romero, L.	137, 339	Tapia-Galisteo, J.	39, 75
Romero, R.	25, 29	Tarazona, M.	165
Ros, D.	287	Teare, J.	221
Rosado, A.	371	Tejero, L.	141
Roycroft, B.	221	Tiu, C.	175
Royuela-del-Val, J.	3	Tobajas, A.	323
Ruiz-Gómez, S. J.	195, 241, 249	Tobón, C.	133
		Tormos, J. M.	161
S		Torres, A.	367
Sabrià, J.	291	Torres-Simón, A.	279
Sadaba, N.	79	Torruella, P.	287
Saiz, J.	133, 137, 339	Trenor, B.	137
Sakaltras, N.	15		
Salas, M.	191	U	
Sales-Maicas, M. A.	345, 357	Udias, J. M.	261
Samitier, J.	287	Ugarte, J. P.	133
Sampol, G.	295	Urendes, E.	311, 315
Sánchez, C.	315	Urgeles, D.	39
Sánchez-González, P.	161, 175, 235	Usó-Talamantes, R.	43
Sánchez-Margallo, F. M.	57, 129, 171, 175, 185, 221		
Sánchez-Margallo, J. A.	171	V	
Sánchez, O.	253	Vallverdú, M.	295
Sánchez, P.	379	Vaquerizo, F.	249
Sánchez-Peralta, L. F.	175	Vaquero, J. J.	261, 279
Sánchez-Rexach, E.	181	Vaquero, N.	57
Sanromán-Junquera, M.	85	Varela, I.	267
Santamaría-Vázquez, E.	61	Vasile, A.	261
Sanz-Estébanez, S.	3	Vázquez, A.	161
Sarasua, J. R.	79, 181, 253	Vidorreta, M.	7
Sarlabous, L.	367	Vila-Cha, C.	57
Schiaffino, L.	371	Vilarroya, O.	303
		Vivas-Consuelo, D.	43

W

Wéber, G.

175

Wik, L.

93

Y

Yagüe, C.

299

Ye-Lin, Y.

165, 335

Yndriago, L.

327

Z

Zeinoun, M.

213

Zhukov, A.

245

Zhukova, V.

245

Zlotnik, A.

43

Zorio, E.

339, 379

Zuza, E.

79



**CASEIB
2018
XXXVI**

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

