

www.caseib.es\2019

Santander, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla 27 al 29 de noviembre de 2019



Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas (TOA) Departamento de Tecnología Electrónica, Ingeniería de Sistemas y Automática (TEISA) Universidad de Cantabria ETS de Ingenieros Industriales y de Telecomunicación Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria) España www.teisa.unican.es/toa



CASEIB 2019

XXXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Actas del Congreso CASEIB 2019

27 al 29 de noviembre de 2019 Santander, Cantabria, España















©2019 Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Universidad de Cantabria

Para más información sobre esta publicación:

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas (TOA) Universidad de Cantabria

> ETS Ingenieros Industriales y de Telecomunicación Avenida de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria) España Tel: +34-942-20-67-30 Fax: +34-942-20-18-73 toa@teisa.unican.es

ISBN 978-84-09-16707-4 Depósito Legal SA-889-2019

Prefacio

Estimados congresistas,

En nombre del Comité Organizador, es un privilegio darles la bienvenida al XXXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB2019) que se celebrará del 27 al 29 de noviembre en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) en Santander. Organizado por la Universidad de Cantabria (UC) a través del grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas (TOA), el HUMV y la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (SEIB) en colaboración.

CASEIB2019 es el foro de referencia nacional para el intercambio científico-técnico de conocimiento, experiencias y promoción de la I+D+i en Ingeniería Biomédica. Un punto de encuentro de científicos, profesionales de la industria, ingenieros biomédicos y profesionales clínicos interesados en las últimas novedades en investigación, educación y aplicación industrial y clínica de la ingeniería biomédica.

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 programa científico se complementa con mesas redondas de actualidad.

Deseamos que este CASEIB sea fructífero para todos los participantes y que encuentren en la bella y acogedora ciudad de Santander y en la hermosa y casi infinita, por sus posibilidades, Cantabria, por ejemplo, con 10 cuevas prehistóricas Patrimonio de la Humanidad por la Unesco, el lugar idóneo para establecer sinergias que contribuyan a introducir y potenciar el empleo de nuevas técnicas y equipos de tratamiento y diagnóstico en el entorno clínico-hospitalario con el fin de posibilitar el futuro desarrollo de una medicina personalizada y universal.

Dr. Ing. José Luis Arce Diego

Catedrático en Ingeniería Biomédica

Presidente del Comité Organizador del CASEIB2019

Dr. Ing. Félix Fanjul Vélez

Profesor Titular en Ingeniería Biomédica

Secretario del Comité Organizador del CASEIB2019

Comité Organizador

Presidencia:

José Luis Arce Diego, Universidad de Cantabria Rafael Tejido, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

Secretaría

Félix Fanjul Vélez, Universidad de Cantabria Beatriz López Muñiz, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

Vocales

Jesús Martín Lázaro, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla Álvaro Marcelino Díaz Martínez, Universidad de Cantabria José Carlos Rodríguez Rey, Universidad de Cantabria Flor María Pérez Campo, Universidad de Cantabria Gabriel Moncalián Montes, Universidad de Cantabria Enrique Marco de Lucas, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla María Carmen Fariñas, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-Universidad de Cantabria

Colaboradores

José Luis Ganoza Quintana, Universidad de Cantabria Sandra Pampín Suárez, Universidad de Cantabria Raichanny de la Nuez Díaz, Universidad de Cantabria Mariana García González, Universidad de Cantabria

Comité Científico

Presidente:

Raimon Jané Campos, Universidad Politécnica de Cataluña

Secretario

Félix Fanjul Vélez, Universidad de Cantabria

Vocales

Begoña Acha Piñero, Universidad de Sevilla Raúl Alcarañ Martíneñ, 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 María Gloria Bueno García, Universidad de Castilla-La Mancha César Cáceres Taladriñ, Universidad Rey Juan Carlos Manuel Desco Menéndez, Universidad Carlos III de Madrid José Luis Fernández Torre, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla Javier García Casado, Universidad Politécnica de Valencia María García Gadañón. Universidad de Valladolid Beatriz F. Giraldo Giraldo, Universidad Politécnica de Cataluña Enrique J. Gómeñ Aguilera, Universidad Politécnica de Madrid José Luis Gutiérreñ Baños, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla María Elena Hernando Péreñ, Universidad Politécnica de Madrid Roberto Hornera Sáncheñ, Universidad de Valladolid Unai Irusta Zarandona, Universidad del País Vasco Pablo Laguna Lasaosa, Universidad de Zaragoza María Jesús Ledesma Carbayo, Universidad Politécnica de Madrid Maite Mújika Garmendia, CEIT-TECNUN, San Sebastián Pedro Prada Gómeñ, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla Gema Prats Boluda, Universidad Politécnica de Valencia Jesús Poza Crespo, Universidad de Valladolid Javier Reina Tosina, Universidad de Sevilla José Joaquín Rieta Ibáñez, Universidad Politécnica de Valencia Isabel Román Martíneñ, Universidad de Sevilla Francisco Javier Sáiz Rodrígueñ, Universidad Politécnica de Valencia Patricia Sáncheñ Gonzáleñ, Universidad Politécnica de Madrid Miguel Sáncheñ Margallo, C. C. M. I. Jesús Usón Daniel Sáncheñ Morillo, Universidad de Cádiñ Andrés Santos Lleó, Universidad Politécnica de Madrid Carmen Serrano Gotarredona, Universidad de Sevilla José María Tormos Muñoz, Instituto Guttman Abel Torres Cebrián, Universidad Politécnica de Cataluña Juan José Vaquero, Universidad Carlos III de Madrid

Índice de contribuciones

BoneAnalytics: software para cuantificación ósea en imágenes de TAC
Salinas, Manuel Desco and Mónica Abella
CONSTRUYENDO MAPAS DE HETEROGENEIDAD TUMORAL laura nicolas and Arrate Munoz-Barrutia
Clasificación de imágenes de ultrasonido fetal mediante redes neuronales Pablo Delgado-Rodriguez, Juan De León-Luis, María Ruiz-Minaya, Manuel Concepción-Brito, Alberto Muñoz and Javier Pascau
Segmentación de hueso, músculo y grasa en volúmenes TAC mediante relajación convexa JOSE-ANTONIO PÉREZ-CARRASCO, Carmen Serrano and Begoña Acha13
<i>Texture analysis of 18F-florbetapir PET brain images for the diagnosis of Alzheimer's disease</i> Eva Milara, Alexander P. Seiffert, Adolfo Gómez-Grande, Alberto Villarejo-Galende, Héctor Bueno, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
Desarrollo de un algoritmo de procesamiento de imágenes de 18F-fluorodesoxiglucosa PET para la clasificación de nódulos pulmonares Alejandro Lucero, Alexander P. Seiffert, Patrick Pilkington, Adolfo Gómez-Grande, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
<i>Evaluación de la información espectral de las señales de flujo aéreo y saturación de oxígeno en sangre para la ayuda al diagnóstico de la apnea del sueño infantil</i> Jorge Jiménez García, Gonzalo César Gutiérrez Tobal, María García Gadañón, Daniel Álvarez González, Verónica Barroso García, Fernando Vaquerizo Villar, Adrián Martín Montero, Félix del Campo Leila Kheirandish-Gozal, David Gozal and Roberto Hornero Sánchez
Validación Robusta de un Algoritmo de Detección y Delineación de Ondas P con Diferentes Conjuntos de Registros Electrocardiográficos Anotados Antonio Ruiz Moreno, Miguel Ángel Arias, María Inmaculada Pachón, Philip Langley, José J Rieta and Raul Alcaraz
<i>Nuevo método de medición del "jitter" electromiográfico</i> Armando Malanda, Daniel Stashuk, Javier Navallas and Javier Rodríguez Falces
Diagnóstico del ritmo cardíaco durante la resucitación cardiopulmonar mediante técnicas de apren- dizaje profundo Iraia Isasi, Libe Lopez de Larruzea, Unai Irusta and Elisabete Aramendi
Aplicación de la entropía multiescala a lapredicción del éxito de la cardioversión eléctrica en fibrilación auricular persistente Eva Cirugeda, Raul Alcaraz, Eva Plancha, Víctor Manuel Hidalgo, Sofía Calero and José J Rieta41
Evaluación Automática de la Fragmentación en Electrogramas de Fibrilación Auricular para Evalu- ación del Sustrato Auricular Aikaterini Vraka, Fernando Hornero Sos, Joaquín Osca Asensi, Oscar Cano Pérez, Raul Alcaraz and José J Rieta

Análisis de las componentes tangencial y normal del campo eléctrico en la estimulación transcraneal de la corteza motora
María Amparo Callejón-Leblic, Pablo Franco Rosado, Javier Reina Tosina, Laura M. Roa, Juan Francisco Martín-Rodríguez and Pablo Mir
Volumetric DCE-MRI Phantom for Liver Perfusion Analysis Rosa-María Menchón-Lara, Marcos Martín-Fernández and Carlos Alberola-López
<i>Estudio de fantomas para simulación clínica ecogénica de órganos del cuerpo humano</i> Mariana García González, Juan Pedraja Vidal, Ignacio del Moral Vicente-Mazariegos, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez
<i>Uso de bioimpresión 3D para la creación de músculo esquelético.</i> Francisco José Calero Castro, Paula Villanueva Gómez, Carlos González García, Francisco Javier Padillo Ruiz and Fernando de la Portilla de Juan
Análisis de las propiedades dependientes de la frecuencia e intensidad de una fibra nerviosa auditiva Norma Castañeda-Villa, Virginia González-Vélez and Amparo Gil
<i>Diseño e implementación de un módulo de trauma hemorrágico para simulación clínica</i> Beatriz Martín, Javier Rubio, Blanca Larraga, Manuel Quintana and Álvaro Gutiérrez
Microfluidic filtering unit for the evaluation of RBC mechanical properties (Rare haemolytic anaemia model)
Valeria Rizzuto, Arianna Mencanttini, Begoña Álvarez Gonzalez, Maria Alejandra Ortega, Javier Ramon Azcon, Eugenio Martinelli, David Beneitez, Maria del Mar Mañú Pereira, Maria Jose Lopez Martinez and Josep Samitier
Preliminary glycerine tests using Quartz Crystal Resonator based biosensor for medical diagnosis Andrés Miranda Martínez, Marco Xavier Rivera González, Michael Zeinoun, Luis Armando Car- vajal Ahumada and José Javier Serrano Olmedo
 NewGenHT - New generation of magnetic hyperthermia devices: application for cancer treatment. Michael Zeinoun, Marco Xavier Rivera Gonzalez, Andrés Miranda Martinez, Alejandro Angulo Llorente, Patricia Sánchez Mercado, Milagros Ramos and Jose Javier Serrano Olmedo
Análisis del proceso de la Terapia Fotodinámica aplicada al glioma cerebral Raichanny de la Nuez Díaz, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez
<i>Evaluación biomecánica de la función residual del miembro superior tetrapléjico tras cirugía de trasposi- ción tendinosa deltoides posterior a tríceps braquial: Estudio de dos casos</i> Elisa López-Dolado, Javier Espino, Mónica Alcobendas Maestro, Vicente Lozano Berrio, Ángel Gil Agudo and Ana de los Reyes Guzmán
<i>Conical tip gauge influence in extrusion bioprinting: computational simulation study</i> Juan Carlos Gómez Blanco, Enrique Mancha Sánchez, María López Espino, Antonio Díaz Par- ralejo, Francisco Miguel Sánchez Margallo and José Blas Pagador Carrasco
Sobre la detección de firmas de scattering en imágenes SFDI de tumorectomías de cáncer de mama mediante agrupaciones de inteligencias artificiales: avances en el estado de la técnica Arturo Pardo, Samuel S. Streeter, Benjamin W. Maloney, José Alberto Gutiérrez Gutiérrez, José M. López-Higuera, Brian W. Pogue and Olga M. Conde

 Virtualización del test clínico Box and Block basado en Leap Motion Controller María Alvarez Rodríguez, Vicente Lozano Berrio, Silvia Ceruelo Abajo, Francisco Talavera Díaz, Angel Gil Agudo and Ana de los Reyes Guzmán
Análisis diagnóstico de afecciones cutáneas mediante el uso de Espectroscopía de Reflectancia DifusaSonia Buendía Avilés, Margarita Cunill Rodríguez, José Alberto Delgado Atencio, José Luis ArceDiego and Félix Fanjul Vélez103
Surface reconstruction through thermal images to use it as prior information in iterative reconstruction algorithms Alessandro Piol, Elisa F. Mavaver, Patricia M. Berdón, Clara Rivero, Manuel Desco and Mónica Abella
Development of an image processing algorithm for the diagnosis of chronic thromboembolic pulmonary hypertension Paula Cara, Alexander P. Seiffert, Patrick Pilkington, Adolfo Gómez-Grande, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez 111
Red Blood Cell Segmentation for Malaria Detection Using Deep Learning Maria Delgado Ortet, Santiago Alférez, Ángel Molina, Anna Merino and Jose Rodellar115
Multiprocesado automático de datos de espectroscopía por resonancia magnética [UltraSP] David Pedroche Álvarez, María Luisa Soto Montenegro, Manuel Desco, Daniel Rodríguez Pérez and Cristina Santa Marta 119
A functional murine model for the study of visual rehabilitation: neural activity in behaving rats Alejandro Barriga Rivera
Análisis de la Variabilidad del Ritmo Cardiaco para la Predicción de la Parada Cardiaca Extrahospita- laria Recurrente Andoni Elola, Enrique Rueda, Naroa Amezaga, Elisabete Aramendi and Unai Irusta 127
<i>Estudio del comportamiento dinámico del EEG durante la progresión de deterioro cognitivo leve a de- mencia por enfermedad de Alzheimer</i> Pablo Núñez Novo, Jesús Poza, Carlos Gómez, Marcos Revilla Vallejo, Miguel Ángel Tola Arribas, Mónica Cano and Roberto Hornero
<i>Evaluación de la calidad en registros electrocardiográficos de larga duración y una sola derivación mediante una red neural convolucional</i> Alvaro Huerta Herraiz, Arturo Martinez Rodrigo, Vicente Bertomeu, Aurelio Quesada, José J Rieta and Raul Alcaraz
Optimización de la Recurrencia de la Duración de los Ciclos Respiratorio y Cardíaco para Caracterizar Pacientes en Proceso de Extubación Beatriz Giraldo
Propuesta de mejora en la gestión de residuos hospitalarios Paula Prados Poveda, Daniel Ruiz Fernández, Diego Marcos Jorquera and Manuel Lillo Crespo143
Medición automática y eficiente de CDR e ISNT en retinografías mediante morfología matemática y contornos activos Rafael Verdú-Monedero, Juan Morales-Sánchez, Rafael Berenguer-Vidal, Inmaculada Sellés-Navarro

Propuesta de arquitectura de un sistema para la asistencia en el diagnóstico de la EPOC Alberto de Ramón Fernandez, Daniel Ruiz Fernández, Diego Marcos Jorquera and Virgilio Gilart
Iglesias
<i>Entorno virtual para aplicaciones BCI como prueba de concepto para solventar problemas de movilidad y accesibilidad</i> Carlota Abascal, Diego Moreno Blanco, Ignacio Oropesa, Manuel Rodriguez Matesanz, Patricia Sánchez and Enrique J Gómez Aguilera
Macroanálisis de variables demográficas, de salud y de estilo de vida en voluntarios en estudio longitu- dinal de cohortes sobre salud cerebral Manuel Jimenez-Hernando, Diego Moreno Blanco, Patricia Sánchez, Javier Solana and Enrique J Gómez Aguilera
 Design and implementation of a video-consulting and messaging platform based on WebRTC Francisco J. Gárate, Noelia García, Patricia Sánchez, Paloma Chausa, Felipe García, Jennifer Whetham and Enrique J Gómez Aguilera
Indoor Guide System developed for Visually Impaired People Jose Arranz Sanz, Milagros Jaén Vargas and Javier Serrano Olmedo
Aplicación de la espectroscopía de reflectancia difusa a la caracterización de tejidos biológicos ex-vivo José Luis Arce Diego, Sandra Pampín Suárez and Félix Fanjul Vélez
<i>Transfer learning para evaluar de forma automática la calidad en imágenes de fondo de ojo</i> Roberto Romero, María García, Javier Oraá Pérez, María Isabel López Gálvez and Roberto Hornero 175
<i>Portable tomography with a conventional C-Arm system</i> Clara Rivero, Nerea Ballesteros Tenrero, Manuel Desco and Mónica Abella
<i>Quantitative analysis of early-phase 18F-flutemetamol PET brain images</i> Walid Dghoughi, Alexander P. Seiffert, Adolfo Gómez-Grande, Alberto Villarejo-Galende, Héctor Bueno, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
Análisis de la diferencia de valores de CDR de ambos ojos medido manualmente en retinografías y su relación con la presencia de glaucoma Inmaculada Sellés-Navarro, Ana Palazón-Cabanes, Rafael Verdú-Monedero, Juan Morales-Sánchez, Isabel Pulido de la Paz and Antonia Martínez-Jara
Algoritmo basado en redes neuronales recurrentes para la detección de ritmos desfibrilables Xabier Jaureguibeitia, Unai Irusta, Elisabete Aramendi, Beatriz Chicote Gutiérrez, Daniel Alonso, Carlos Corcuera, Jose Veintemillas, Andima Larrea and Mikel Olabarria
Localización Mejorada de Activaciones Dominantes en Fibrilación Auricular Mediante Detección Mul- ticanal Aikaterini Vraka, Diego Osorio, Vicente Bertomeu González, Alicia Ibáñez Criado, Raul Alcaraz and José J Rieta
Modelado computacional de la conducción de volumen en el EEG. Caracterización del deterioro cogni- tivo leve y su progresión a la enfermedad de Alzheimer Saúl José Ruiz-Gómez, Calos Gómez, Jesús Poza, Aarón Maturana-Candelas, Miguel Ángel Tola- Arribas, Mónica Cano and Roberto Hornero

Computational simulations of the effects of the V17M missense mutation on atrial electrical activity Rebecca Belletti, Laura Martinez, Lucía Romero and Javier Saiz
<i>Efectos sobre la función de coherencia óptica de los tejidos biológicos empleando funciones de Green para haces MGS</i> José Luis Ganoza-Quintana, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez
<i>Effects of fixation solutions for rodent fibrosis assessment with OCT and hyperspectral imaging</i> Eusebio Real, José Alberto Gutiérrez-Gutiérrez, Arturo Pardo, Xavier Suarez Calvet, Jordi Díaz Manera, José Miguel López Higuera and Olga Conde
<i>Diagnóstico de esclerosis múltiple a partir de imágenes de tomografía de coherencia óptica</i> Carlo Cavaliere, Miguel Ortiz del Castillo, Rafael Barea Navarro, Elena Garcia-Martin, María Jesús Rodrigo, Elisa Vilades and Luciano Boquete
Discriminación de tejidos biológicos mediante espectroscopía óptica intrínsica y extrínseca para cirugía guiada Félix Fanjul Vélez, Álvaro M. Díaz-Martínez, Emilio Garro-Martínez and José Luis Arce Diego 219
Comparative study of quantitative scales for the evaluation of treatment response in Hodgkin lymphoma José María Quiles-Franquet, Alexander P. Seiffert, Ana Cristina Hernández-Martínez, Adolfo Gómez- Grande, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
Clasificación de patrones de imágenes dermatoscópicas mediante textones ICA Susana Hornillo-Mellado, Carmen Serrano and Begoña Acha
Evaluation of visual prognosis in patients by extracting and processing volumetric information from macular OCT images Daniel Capellán-Martín, María José Crespo-Carballes and M. Elena Hernando
Desarrollo de un sistema de identificación, cuantificación y determinación de viabilidad celular de mi- croorganismos indeseados en bebidas, capaz de pilotar en tiempo real un subsistema de tratamiento para su reducción/control J. Zabalo Carrere, C. Sobejano de la Merced, E. Pérez Lorenzo, J. Gamboa, I. Zapiain, S. Arana Alonso Jon Zabalo, Carlos Sobejano, Eva Pérez, Javier Gamboa, Ion Zapiain and Sergio Arana235
Dispositivo inteligente de espectroscopía de bioimpedancia para la estimación de la composición cor- poral David Naranjo-Hernández, Javier Reina-Tosina, Laura M. Roa, Gerardo Barbarov-Rostán, Pilar Cejudo-Ramos and Francisco Ortega-Ruiz
Potenciales Corticales Eléctricamente Evocados para el Análisis de los Parámetros de Estimulación del Implante Coclear Amparo Callejón Leblic, M.M Barrios-Romero, M. Díaz-Gómez, A Postigo and S Sanchez243
Diseño e implementación de un pulsioxímetro reflexivo y estudio de su funcionamiento en diferentes zonas del cuerpo Francisco González Romero, David Naranjo Hernández and Javier Reina Tosina247
Contribution to the design of novel tailor-made magnetic biomaterials for blood detoxification through molecular dynamics simulations Cristina González-Fernández, Arantza Basauri, Marcos Fallanza, Eugenio Bringas and Inmaculada Ortiz

Physiological responses and enjoyment of a Kinect-based exergame in older adults: A pilot study

Estudio piloto de viabilidad acerca del uso de gafas de Realidad Virtual para la rehabilitación tras afecciones neurológicas

María Alvarez Rodriguez, Esther Benayas Martín, Vicente Lozano Berrio, Silvia Ceruelo Abajo, Elisa López Dolado, Angel Gil Agudo, Francisco Talavera Díaz and Ana de los Reyes Guzmán 259

Repeatability of calibration process of a multi-field FES device for compensation of foot drop

Aitor Martín, Adriana Aranguren, Eukene Imatz-Ojanguren, Haritz Zabaleta and Thierry Keller263

Diseño e implementación de un sistema electrónico para la monitorización de la marcha en personas con lesión medular

Álvaro Gutiérrez-Tenorio, Blanca Larraga-García, Antonio J. del-Ama and Álvaro Gutiérrez . . 267

Extrusion bioprinting of a commercial bioink: a computational simulation of the temperature / pressure relation

Serious game para la estimulación física de los mayores. Prueba de concepto

Blockchain technology in healthcare: use cases and limits

Análisis de dynalogs para el control de calidad del posicionamiento del MLC de un acelerador lineal Nuria Gómez González, Cristina María Santa Marta Pastrana and Jaime Martínez Ortega 283

Diseño e implementación de un sistema de apoyo a la valoración clínica del glaucoma basado en seguimiento de la mirada

Ignacio Martínez-Almeida, Paula Lampreave, José María Martínez de la Casa and Patricia Sánchez 287

Estudio de los Cambios en La Morfología de las Ondas T como Sustituto de la Concentración de Potasio en Sangre en Pacientes de Hemodiálisis

Flavio Palmieri, Pedro Gomis, Dina Ferreira, José Esteban Ruiz, Beatriz Bergasa, Alba Martín-Yebra, Hassaan A. Bukhari, Esther Pueyo, Juan Pablo Martínez, Julia Ramírez and Pablo Laguna . . 291

Utilidad de nuevas bandas espectrales en la señal de HRV para ayudar en el diagnóstico de la apnea del sueño infantil

Groupwise Deep Learning-based Approach for Motion Compensation. Application to Compressed Sensing 2D Cardiac Cine MRI Reconstruction

Influencia de la reserva cognitiva en los patrones neurofisiológicos asociados a la evolución de la enfermedad de Alzheimer

Víctor Rodríguez-González, Victor Gutiérrez-de Pablo, Jesús Poza, Carlos Gómez, Miguel Ángel Tola-Arribas, Monica Cano del Pozo and Roberto Hornero
Mimicking Soft Living Tissues for 3D Printed Surgical Planning Prototypes Using Different Materials Aitor Tejo-Otero, Felip Fenollosa-Artés and Irene Buj-Corral 307
Modelado y simulación de mutaciones causantes de la taquicardia ventricular polimórfica catecolam- inérgica
Fernando Escobar Ropero, Miguel Angel Arnau Vives, Esther Zorio Grima, Javier Saiz and Lucía Romero 311
EVE: A liquid handling robot based on LEGO Mindstorms Ariadna Fosch Muntané, Letícia Galera and Jordi Garcia-Ojalvo
El bloqueo de la corriente de calcio tipo-L dificulta la génesis y estabilidad de reentradas en tejidos formados por cardiomiocitos adultos y derivados de iPSC
Albert Dasi, Andreu M. Climent, Jose M Ferrero and Beatriz Trenor
Análisis de la morfología de la señal de la voz para la intubación de pacientes en una intervención quirúrgica
Isabel Moragues Aguiló, Claudia Rodiera Clarens, Rosa Borrás Ramirez, Adaia Valls Ontañón, Sara Julián González, Ferran Callicó Ros, Josep Rodiera Olivé and Beatriz Fabiola Giraldo Giraldo 323
Diseño de un protocolo de cultivo de neuronas sobre fibras de fibroína para aplicaciones neurorregen- erativas
Juan Mercado Gómez, Milagros Ramos Gómez and José Pérez Rigueiro
Desarrollo de un microentorno mamario in vitro para el crecimiento de células tumorales como modelo de cáncer de mama en dispositivos microfluídicos
Laura Zabalza and Oihane Mitxelena 331
Desarrollo de tecnologías de micromecanizado para el sector point of care de diagnóstico Markel Gómez Sainz, Patxi Aristimuño, Florian Laouenan, Diana Enériz and Unai Ayala Fernández 335
Design of a Sensing Force Platform to Assess Center of Pressure Javier Cortina and Rafael Raya
Haptic technology to tactile perception in robotic surgery Arturo Yscadar, Antonio Alcaraz Asensio and Manel Puig-Vidal
<i>Textural and Morphological Features for Grading Brain Cancer Images</i> Jorge Tarancón Rey, Alberto Fernández Comseaña, Cristina Soguero Ruiz, Inmaculada Mora Jiménez and Dimitris Glotsos
Desarrollo de un asistente virtual enfocado a la educación gamificada en infecciones de trasmisión sex- ual

Validación preliminar de un juego serio desarrollado para la estimulación cognitiva de los mayores

valuación preliminar de un juego serio desarrollado para la estimulación cognitiva de los mayores
Jose Luis Moyano-Cuevas, Francisco M Esteban-Gomez, Francisco M Sánchez-Margallo, Juan
Francisco Ortega Morán, Vicente Gilete-Preciado, Carolina Vila-Cha, Esteban Matinena, Pedro Nuñez-
Trujillo and Jose Blas Pagador
Sistema para la atención al paciente en ingresos hospitalarios
Nuria Salazar García, Diego Marcos Jorquera and Daniel Ruiz Fernández
Localización de pacientes de la UCI en un complejo hospitalario con múltiples edificios conectados por túneles
Jesús D. Trigo, Hicham Klaina, Imanol Picallo, Peio López-Iturri, José J. Astrain, Francisco Falcone
and Luis Serrano-Arriezu
Análisis del Comportamiento de Canal Radioeléctrico en la Implantación de Servicios Contextuales del
Internet of Medical Things
Imanol Picallo, Peio Lopez Iturri, Jesus Daniel Trigo Vilaseca, Jose Javier Astrain, Luis Serrano
and Francisco Falcone
A facial expression recognition system for eHealth intervention platforms: A proof of concept

Optimización en la extracción de datos mediante procesamiento de lenguaje natural en terapias de adicción a cocaína

Caracterización de la actividad eléctrica uterina durante la gestación, el parto y el postparto

Javier Mas, Gema Prats, Javier García, Alfredo Perales, Jose Alberola, Ángel López and Yiyao Ye 379

Desarrollo de un entorno virtual para la valoración clínica del glaucoma

Paula Lampreave, Ignacio Martínez-Aleida, José María Martínez de la Casa and Patricia Sánchez 383

Diseño y desarrollo de una aplicación para la formación de neurofisiólogos en la identificación de señales MER en cirugía de estimulación cerebral profunda.

Marcos Gómez Tomé, Marta Naranjo Castresana, Patricia Sánchez, Cristian Rizea, Francisco Vivancos, Ana Rodríguez Sanz, Yolanda Herrero Infante, Saúl Marín Esteban, José Francisco Paz Solís, María Román de Aragón, Enrique J Gómez Aguilera, María Elena Hernando and Ignacio Oropesa . 387

Diseño e implementación de un entorno de formación para el entrenamiento de ecografía transcraneal neonatal

Sistema de asistencia al aprendizaje de patologías respiratorias para estudiantes de medicina

Metodologías para el incremento de la motivación del alumnado y la optimización de la acción tutorial lectiva en laboratorios de ingeniería biomédica

Usability and Face Validity of the Virtual Soft Skills Game

Luisa F. Sánchez-Peralta, Enrique Mediero, Carlos Rubiales, Angel Rubio, Guillermo Casquero, Francisco Manuel Esteban Gómez, Francisco Miguel Sánchez Margallo and J. Blas Pagador
Relación entre los movimientos oculares sacádicos y la carga cognitiva de los cirujanos durante la visualización de un procedimiento laparoscópico avanzado
Pagador
Clasificación de Tejido Tumoral y no Tumoral en Imágenes Multiespectrales de Biopsias de Mama Gloria Bueno, Javier Córdoba, Noelia Vallez and Lucia Gonzalez
<i>Validation and reliability of a new Hand-Held Dynamometer</i> Adriana Modrego, Roger Marginet, Ricardo Jauregui and Simone Balocco
<i>Herramienta para la personalización de las medidas de protección radiológica en terapias metabólicas</i> Patricia Gómez Valiente, Jose Iniesta, Paula García Castañón, Jose Tapia Galisteo and M. Elena Hernando
Mapas de correspondencias y auto-codificadores para el análisis de grupos de pacientes crónicosNoelia López-García, Cristina Soguero-Ruíz, Isabel Caballero-López-Fando, Ángel Gómez-Delgadoand Inmaculada Mora-Jiménez423
Servicio de Indexado de personas conforme a FHIR Isabel Román, Daniel García de Sola, Jorge Calvillo, Germán Madinabeitia and Juan Antonio
Ternero
Implementación de un sistema de consulta de interacciones antirretrovirales mediante un asistente vir- tual
Jesús D. Trigo, Victoria Duro, Imanol Picallo, Peio López-Iturri, José Javier Astrain Escola, Fran-

Programa del Congreso

Miércoles 27 de noviembre

9:30–11:30 Sesión: Imagen Médica I

- 9:30–9:50 *BoneAnalytics: software para cuantificación ósea en imágenes de TAC* Patricia M. Berdón, Nerea Ballesteros Tenrero, Beatriz Bravo, Clara Heras, Daniel Lozano, Antonio Salinas, Manuel Desco and Mónica Abella
- 9:50–10:10 *Construyendo mapas de heterogeneidad tumoral* Laura Nicolas and Arrate Munoz-Barrutia
- 10:10–10:30 *Clasificación de imágenes de ultrasonido fetal mediante redes neuronales* Pablo Delgado-Rodriguez, Juan De León-Luis, María Ruiz-Minaya, Manuel Concepción-Brito, Alberto Muñoz and Javier Pascau
- 10:30–10:50 Segmentación de hueso, músculo y grasa en volúmenes TAC mediante relajación convexa JOSE-ANTONIO PÉREZ-CARRASCO, Carmen Serrano and Begoña Acha
- 10:50–11:10 Texture analysis of 18F-florbetapir PET brain images for the diagnosis of Alzheimer's disease
 Eva Milara, Alexander P. Seiffert, Adolfo Gómez-Grande, Alberto Villarejo-Galende, Héctor Bueno, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
- 11:10–11:30 *Desarrollo de un algoritmo de procesamiento de imágenes de 18Ffluorodesoxiglucosa PET para la clasificación de nódulos pulmonares* Alejandro Lucero, Alexander P. Seiffert, Patrick Pilkington, Adolfo Gómez-Grande, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez

9:30-11:30 Sesión: Procesado de Señal Biomédica I

- 9:30–9:50 *Evaluación de la información espectral de las señales de flujo aéreo y saturación de oxígeno en sangre para la ayuda al diagnóstico de la apnea del sueño infantil* Jorge Jiménez García, Gonzalo César Gutiérrez Tobal, María García Gadañón, Daniel Álvarez González, Verónica Barroso García, Fernando Vaquerizo Villar, Adrián Martín Montero, Félix del Campo, Leila Kheirandish-Gozal, David Gozal and Roberto Hornero Sánchez
- 9:50–10:10 Validación Robusta de un Algoritmo de Detección y Delineación de Ondas P con Diferentes Conjuntos de Registros Electrocardiográficos Anotados Antonio Ruiz Moreno, Miguel Ángel Arias, María Inmaculada Pachón, Philip Langley, José J Rieta and Raul Alcaraz
- 10:10–10:30 *Nuevo método de medición del "jitter" electromiográfico* Armando Malanda, Daniel Stashuk, Javier Navallas and Javier Rodríguez Falces

- 10:30–10:50 *Diagnóstico del ritmo cardíaco durante la resucitación cardiopulmonar mediante técnicas de aprendizaje profundo* Iraia Isasi, Libe Lopez de Larruzea, Unai Irusta and Elisabete Aramendi
- 10:50–11:10 Aplicación de la entropía multiescala a lapredicción del éxito de la cardioversión eléctrica en fibrilación auricular persistente
 Eva Cirugeda, Raul Alcaraz, Eva Plancha, Víctor Manuel Hidalgo, Sofía Calero and José J Rieta
- 11:10–11:30 Evaluación Automática de la Fragmentación en Electrogramas de Fibrilación Auricular para Evaluación del Sustrato Auricular
 Aikaterini Vraka, Fernando Hornero Sos, Joaquín Osca Asensi, Oscar Cano Pérez, Raul Alcaraz and José J Rieta

9:30–11:30 Sesión: Modelado y Simulación de Sistemas

- 9:30–9:50 Análisis de las componentes tangencial y normal del campo eléctrico en la estimulación transcraneal de la corteza motora
 María Amparo Callejón-Leblic, Pablo Franco Rosado, Javier Reina Tosina, Laura M. Roa, Juan Francisco Martín-Rodríguez and Pablo Mir
- 9:50–10:10 *Volumetric DCE-MRI Phantom for Liver Perfusion Analysis* Rosa-María Menchón-Lara, Marcos Martín-Fernández and Carlos Alberola-López
- 10:10–10:30 Estudio de fantomas para simulación clínica ecogénica de órganos del cuerpo humano
 Mariana García González, Juan Pedraja Vidal, Ignacio del Moral Vicente-Mazariegos, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez
- 10:30–10:50 Uso de bioimpresión 3D para la creación de músculo esquelético.
 Francisco José Calero Castro, Paula Villanueva Gómez, Carlos González García, Francisco Javier Padillo Ruiz and Fernando de la Portilla de Juan
- 10:50–11:10 Análisis de las propiedades dependientes de la frecuencia e intensidad de una fibra nerviosa auditiva Norma Castañeda-Villa, Virginia González-Vélez and Amparo Gil
- 11:10–11:30 Diseño e implementación de un módulo de trauma hemorrágico para simulación clínica
 Beatriz Martín, Javier Rubio, Blanca Larraga, Manuel Quintana and Álvaro Gutiérrez

11:30–12:30 Sesión de Pósteres I

Microfluidic filtering unit for the evaluation of RBC mechanical properties (Rare haemolytic anaemia model)

Valeria Rizzuto, Arianna Mencanttini, Begoña Álvarez Gonzalez, Maria Alejandra Ortega, Javier Ramon Azcon, Eugenio Martinelli, David Beneitez, Maria del Mar Mañú Pereira, Maria Jose Lopez Martinez and Josep Samitier

Preliminary glycerine tests using Quartz Crystal Resonator based biosensor for medical diagnosis

Andrés Miranda Martínez, Marco Xavier Rivera González, Michael Zeinoun, Luis Armando Carvajal Ahumada and José Javier Serrano Olmedo

NewGenHT - New generation of magnetic hyperthermia devices: application for cancer treatment.

Michael Zeinoun, Marco Xavier Rivera Gonzalez, Andrés Miranda Martinez, Alejandro Angulo Llorente, Patricia Sánchez Mercado, Milagros Ramos and Jose Javier Serrano Olmedo

Análisis del proceso de la Terapia Fotodinámica aplicada al glioma cerebral Raichanny de la Nuez Díaz, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez

Silenciamiento del gen Smurf1 mediante un sistema combinado de ASOs y nanopartículas lipídicas para promover la regeneración ósea.

Daniel García-Sánchez, Patricia García-García, Mario Ruiz, Ricardo Reyes, Araceli Delgado, Cármen Évora, José Antonio Riancho, José Carlos Rodríguez-Rey and Flor María Pérez-Campo

Funcionalización superficial de nanofibras de PCL electrohiladas para el desarrollo de ápositos para el tratamiento de heridas crónicas

Lorea Buruaga, Claudia Goenaga Ibeas, Naiara Rodriguez-Florez, Estela Lapeira and Alaitz Zabala Eguren

3D Bioprinted Nanocomposite Collagen Hydrogels for Soft Actuators Development Jorge Otero, Laura Gonzalez, Hector Sanz-Fraile, Anna Ureña, Llorenç Roman, Manel Puig-Vidal, Ramon Farre and Daniel Navajas

Silk-Collagen Hydrogels Development for the Biofabrication of Scaffolds with Increased Stiffness

Hector Sanz-Fraile, Susana Amoros, Irene Mendizabal, Carolina Galvez-Monton, Cristina Prat-Vidal, Antoni Bayes-Genis, Daniel Navajas, Ramon Farre and Jorge Otero

Evaluación biomecánica de la función residual del miembro superior tetrapléjico tras cirugía de trasposición tendinosa deltoides posterior a tríceps braquial: Estudio de dos casos

Elisa López-Dolado, Javier Espino, Mónica Alcobendas Maestro, Vicente Lozano Berrio, Ángel Gil Agudo and Ana de los Reyes Guzmán

En route to the standardisation of ensembles of magnetic nanoparticles for biomedical applications

David González-Alonso, P. Bender, J. I. Espeso, J. Fock, Helena Gavilán, L. K. Bogart, P. Southern, L. Zeng, A. Fornara, C. Grüttner, M. P. Morales, Q. A. Pankhurst, L. Fernández Barquín and C. Johansson

Conical tip gauge influence in extrusion bioprinting: computational simulation study

Juan Carlos Gómez Blanco, Enrique Mancha Sánchez, María López Espino, Antonio Díaz Parralejo, Francisco Miguel Sánchez Margallo and José Blas Pagador Carrasco

Sobre la detección de firmas de scattering en imágenes SFDI de tumorectomías de cáncer de mama mediante agrupaciones de inteligencias artificiales: avances en el estado de la técnica

Arturo Pardo, Samuel S. Streeter, Benjamin W. Maloney, José Alberto Gutiérrez Gutiérrez, José M. López-Higuera, Brian W. Pogue and Olga M. Conde

Imágenes de espectrometría de masas: una técnica de histología molecular emergente Vavier Correig

Xavier Correig

Técnicas de realce espectral para visualización de componentes biológicos José Alberto Gutiérrez Gutiérrez, Arturo Pardo Franco, José Miguel Lopez Higuera and Olga Maria Conde Portilla

Virtualización del test clínico Box and Block basado en Leap Motion Controller María Alvarez Rodríguez, Vicente Lozano Berrio, Silvia Ceruelo Abajo, Francisco Talavera Díaz, Angel Gil Agudo and Ana de los Reyes Guzmán

Análisis diagnóstico de afecciones cutáneas mediante el uso de Espectroscopía de Reflectancia Difusa

Sonia Buendía Avilés, Margarita Cunill Rodríguez, José Alberto Delgado Atencio, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez

15:00–16:20 Sesión: Imagen Médica II

15:00–15:20 Surface reconstruction through thermal images to use it as prior information in iterative reconstruction algorithms

Alessandro Piol, Elisa F. Mavaver, Patricia M. Berdón, Clara Rivero, Manuel Desco and Mónica Abella

15:20–15:40 Development of an image processing algorithm for the diagnosis of chronic thromboembolic pulmonary hypertension Paula Cara, Alexander P. Seiffert, Patrick Pilkington, Adolfo Gómez-Grande, En-

rique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez

- 15:40–16:00 *Red Blood Cell Segmentation for Malaria Detection Using Deep Learning* Maria Delgado Ortet, Santiago Alférez, Ángel Molina, Anna Merino and Jose Rodellar
- 16:00–16:20 Multiprocesado automático de datos de espectroscopía por resonancia magnética [UltraSP]
 David Pedroche Álvarez, María Luisa Soto Montenegro, Manuel Desco, Daniel Rodríguez Pérez and Cristina Santa Marta

15:00–16:20 Sesión: Procesado de Señal Biomédica II

- 15:00–15:20 A functional murine model for the study of visual rehabilitation: neural activity in behaving rats Alejandro Barriga Rivera
- 15:20–15:40 Análisis de la Variabilidad del Ritmo Cardiaco para la Predicción de la Parada Cardiaca Extrahospitalaria Recurrente Andoni Elola, Enrique Rueda, Naroa Amezaga, Elisabete Aramendi and Unai Irusta
- 15:40–16:00 Estudio del comportamiento dinámico del EEG durante la progresión de deterioro cognitivo leve a demencia por enfermedad de Alzheimer
 Pablo Núñez Novo, Jesús Poza, Carlos Gómez, Marcos Revilla Vallejo, Miguel Ángel Tola Arribas, Mónica Cano and Roberto Hornero
- 16:00–16:20 Evaluación de la calidad en registros electrocardiográficos de larga duración y una sola derivación mediante una red neural convolucional Alvaro Huerta Herraiz, Arturo Martinez Rodrigo, Vicente Bertomeu, Aurelio Quesada, José J Rieta and Raul Alcaraz
- 15:00–16:20 Sesión: Sistemas Inteligentes
- 15:00–15:20 Optimización de la Recurrencia de la Duración de los Ciclos Respiratorio y Cardíaco para Caracterizar Pacientes en Proceso de Extubación Beatriz Giraldo
- 15:20–15:40 *Propuesta de mejora en la gestión de residuos hospitalarios* Paula Prados Poveda, Daniel Ruiz Fernández, Diego Marcos Jorquera and Manuel Lillo Crespo
- 15:40–16:00 Medición automática y eficiente de CDR e ISNT en retinografías mediante morfología matemática y contornos activos
 Rafael Verdú-Monedero, Juan Morales-Sánchez, Rafael Berenguer-Vidal, Inmaculada Sellés-Navarro and Ana Palazón-Cabanes

16:00–16:20 Propuesta de arquitectura de un sistema para la asistencia en el diagnóstico de la EPOC

Alberto de Ramón Fernandez, Daniel Ruiz Fernández, Diego Marcos Jorquera and Virgilio Gilart Iglesias

16:30-17:30 Sesión de Pósteres II

Tecnologías de "eye tracking" para el análisis de usabilidad de aplicaciones para la promoción de la actividad cognitiva de personas mayores: estudio preliminar Juan Francisco Ortega Morán, José Luis Moyano-Cuevas, Francisco Manuel Esteban-Gómez, Vicente Gilete Pulido, Francisco M. Sánchez Margallo and J. Blas Pagador

Entorno virtual para aplicaciones BCI como prueba de concepto para solventar problemas de movilidad y accesibilidad

Carlota Abascal, Diego Moreno Blanco, Ignacio Oropesa, Manuel Rodriguez Matesanz, Patricia Sánchez and Enrique J Gómez Aguilera

Desarrollo de una plataforma para la captación de constantes vitales en entornos no clínicos con aplicación a epilepsias infantiles (Síndrome de Dravet) Guillermo Miguel Besné Villanueva, Eneko Irigoien, Jesús D. Trigo, José Javier Astrain Escola, Antonio Lopez-Martin, Maite Mujika, Sergio Arana, Julio Artieda González-Granda, Luis Serrano Arriezu, Francisco Falcone and Miguel Valencia

Neural offset time detection in surface diaphragm electromyography Luis Carlos Estrada Petrocelli, Leonardo Sarlabous, Manuel Lozano García, Raimon Jané and Abel Torres

Generación de modelos predictivos de neuroblastoma mediante técnicas de ingeniería de cáncer Aranzazu Villasante, Maria J López-Martinez and Josep Samitier

Validación de un sistema biométrico para la detección de piloerección María Castrillo, Mar Elena and Alejandro Barriga Rivera

Detección de los inicios de actividad y estudio de las latencias musculares en movimientos de la extremidad superior en ratas Yolanda Castillo-Escario, María Rodríguez-Cañón, Guillermo García-Alías and Raimon Jané

Macroanálisis de variables demográficas, de salud y de estilo de vida en voluntarios en estudio longitudinal de cohortes sobre salud cerebral

Manuel Jimenez-Hernando, Diego Moreno Blanco, Patricia Sánchez, Javier Solana and Enrique J Gómez Aguilera

Design and implementation of a video-consulting and messaging platform based on WebRTC

Francisco J. Gárate, Noelia García, Patricia Sánchez, Paloma Chausa, Felipe García, Jennifer Whetham and Enrique J Gómez Aguilera

Indoor Guide System developed for Visually Impaired People Jose Arranz Sanz, Milagros Jaén Vargas and Javier Serrano Olmedo

Sistema de detección de actividad para la monitorización de ancianos en el hogar mediante sensores de gas Joshua Llano, Alexandre Perera Lluna and Jordi Fonollosa

Extracellular Matrix Bioengineered Hydrogels as Scaffolds for Acute Lung Injury 3D Modelling Jorge Otero, Bryan Falcones, Hector Sanz-Fraile, Nanthilde Malandain, Esther Marhuenda, Irene Mendizabal, Isaac Almendros, Daniel Navajas and Ramon Farre

Aplicación de la espectroscopía de reflectancia difusa a la caracterización de tejidos biológicos ex-vivo

José Luis Arce Diego, Sandra Pampín Suárez and Félix Fanjul Vélez

Requisitos esenciales para el diseño de un asistente robótico para el soporte emocional de personas mayores José-Antonio Jiménez Viuda, Sonia Gayoso Requejo, Oscar Martinez Mozos, Raul Nieto Galera and Joaquin Roca-Gonzalez

17:30–18:50 Sesión Imagen Médica III

- 17:30–17:50 Transfer learning para evaluar de forma automática la calidad en imágenes de fondo de ojo
 Roberto Romero, María García, Javier Oraá Pérez, María Isabel López Gálvez and Roberto Hornero
- 17:50–18:10 *Portable tomography with a conventional C-Arm system* Clara Rivero, Nerea Ballesteros Tenrero, Manuel Desco and Mónica Abella
- 18:10–18:30 Quantitative analysis of early-phase 18F-flutemetamol PET brain images
 Walid Dghoughi, Alexander P. Seiffert, Adolfo Gómez-Grande, Alberto Villarejo-Galende, Héctor Bueno, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
- 18:30–18:50 Análisis de la diferencia de valores de CDR de ambos ojos medido manualmente en retinografías y su relación con la presencia de glaucoma
 Inmaculada Sellés-Navarro, Ana Palazón-Cabanes, Rafael Verdú-Monedero, Juan Morales-Sánchez, Isabel Pulido de la Paz and Antonia Martínez-Jara

17:30-18:50 Sesión: Procesado de Señal Biomédica III

- 17:30–17:50 Algoritmo basado en redes neuronales recurrentes para la detección de ritmos desfibrilables
 Xabier Jaureguibeitia, Unai Irusta, Elisabete Aramendi, Beatriz Chicote Gutiérrez, Daniel Alonso, Carlos Corcuera, Jose Veintemillas, Andima Larrea and Mikel Olabarria
- 17:50–18:10 Localización Mejorada de Activaciones Dominantes en Fibrilación Auricular Mediante Detección Multicanal Aikaterini Vraka, Diego Osorio, Vicente Bertomeu González, Alicia Ibáñez Criado, Raul Alcaraz and José J Rieta
- 18:10–18:30 Modelado computacional de la conducción de volumen en el EEG. Caracterización del deterioro cognitivo leve y su progresión a la enfermedad de Alzheimer
 Saúl José Ruiz-Gómez, Calos Gómez, Jesús Poza, Aarón Maturana-Candelas, Miguel Ángel Tola-Arribas, Mónica Cano and Roberto Hornero
- 18:30–18:50 Computational simulations of the effects of the V17M missense mutation on atrial electrical activity
 Rebecca Belletti, Laura Martinez, Lucía Romero and Javier Saiz

17:30–18:50 Sesión Óptica Biomédica

- 17:30–17:50 *Efectos sobre la función de coherencia óptica de los tejidos biológicos empleando funciones de Green para haces MGS* José Luis Ganoza-Quintana, José Luis Arce Diego and Félix Fanjul Vélez
- 17:50–18:10 Effects of fixation solutions for rodent fibrosis assessment with OCT and hyperspectral imaging
 Eusebio Real, José Alberto Gutiérrez-Gutiérrez, Arturo Pardo, Xavier Suarez Calvet, Jordi Díaz Manera, José Miguel López Higuera and Olga Conde
- 18:10–18:30 Diagnóstico de esclerosis múltiple a partir de imágenes de tomografía de coherencia óptica
 Carlo Cavaliere, Miguel Ortiz del Castillo, Rafael Barea Navarro, Elena Garcia-Martin, María Jesús Rodrigo, Elisa Vilades and Luciano Boquete
- 18:30–18:50 Discriminación de tejidos biológicos mediante espectroscopía óptica intrínsica y extrínseca para cirugía guiada
 Félix Fanjul Vélez, Álvaro M. Díaz-Martínez, Emilio Garro-Martínez and José Luis Arce Diego

Jueves 28 de noviembre

8:40–10:00 Sesión: Imagen Médica IV

- 8:40–9:00 Comparative study of quantitative scales for the evaluation of treatment response in Hodgkin lymphoma
 José María Quiles-Franquet, Alexander P. Seiffert, Ana Cristina Hernández-Martínez, Adolfo Gómez-Grande, Enrique J Gómez Aguilera and Patricia Sánchez
- 9:00–9:20 *Clasificación de patrones de imágenes dermatoscópicas mediante textones ICA* Susana Hornillo-Mellado, Carmen Serrano and Begoña Acha
- 9:20–9:40 *Evaluation of visual prognosis in patients by extracting and processing volumetric information from macular OCT images* Daniel Capellán-Martín, María José Crespo-Carballes and M. Elena Hernando
- 9:40–10:00 Desarrollo de un sistema de identificación, cuantificación y determinación de viabilidad celular de microorganismos indeseados en bebidas, capaz de pilotar en tiempo real un subsistema de tratamiento para su reducción/control J. Zabalo Carrere, C. Sobejano de la Merced, E. Pérez Lorenzo, J. Gamboa, I. Zapiain, S. Arana Alonso Jon Zabalo, Carlos Sobejano, Eva Pérez, Javier Gamboa, Ion Zapiain and Sergio Arana

8:40–10:00 Sesión: Sensores y dispositivos biomédicos

- 8:40–9:00 Dispositivo inteligente de espectroscopía de bioimpedancia para la estimación de la composición corporal
 David Naranjo-Hernández, Javier Reina-Tosina, Laura M. Roa, Gerardo Barbarov-Rostán, Pilar Cejudo-Ramos and Francisco Ortega-Ruiz
- 9:00–9:20 Potenciales Corticales Eléctricamente Evocados para el Análisis de los Parámetros de Estimulación del Implante Coclear Amparo Callejón Leblic, M.M Barrios-Romero, M. Díaz-Gómez, A Postigo and S Sanchez
- 9:20–9:40 *Diseño e implementación de un pulsioxímetro reflexivo y estudio de su funcionamiento en diferentes zonas del cuerpo* Francisco González Romero, David Naranjo Hernández and Javier Reina Tosina
- 9:40–10:00 Contribution to the design of novel tailor-made magnetic biomaterials for blood detoxification through molecular dynamics simulations Cristina González-Fernández, Arantza Basauri, Marcos Fallanza, Eugenio Bringas and Inmaculada Ortiz

Jueves 28 de noviembre (continúa)

8:40–10:00 Sesión: Ingeniería de Rehabilitación

- 8:40–10:00 Physiological responses and enjoyment of a Kinect-based exergame in older adults: A pilot study
 Andreia Nicolau, Claudia Vaz, Francisco Manuel Esteban Gómez, Jose Luis Moyano-Cuevas, J.Blas Pagador, Nuno Serra and Carolina Vila-Chã
- 9:00–9:20 Estudio piloto de viabilidad acerca del uso de gafas de Realidad Virtual para la rehabilitación tras afecciones neurológicas
 María Alvarez Rodriguez, Esther Benayas Martín, Vicente Lozano Berrio, Silvia Ceruelo Abajo, Elisa López Dolado, Angel Gil Agudo, Francisco Talavera Díaz and Ana de los Reyes Guzmán
- 9:20–9:40 *Repeatability of calibration process of a multi-field FES device for compensation of foot drop* Aitor Martín, Adriana Aranguren, Eukene Imatz-Ojanguren, Haritz Zabaleta and Thierry Keller
- 9:40–10:00 *Diseño e implementación de un sistema electrónico para la monitorización de la marcha en personas con lesión medular* Álvaro Gutiérrez-Tenorio, Blanca Larraga-García, Antonio J. del-Ama and Álvaro Gutiérrez

11:00–12:00 Sesión de Pósteres III

Implementation and validation of immersive training scenarios within the MIS-SIM surgical simulator Patricia Sánchez, Ignacio Oropesa, Manuel Rodríguez and Enrique J Gómez Aguilera

Optimization of triacylglycerol synthesis by protein engineering Omar Santín and Gabriel Moncalián

Extrusion bioprinting of a commercial bioink: a computational simulation of the temperature / pressure relation

Enrique Mancha Sánchez, Juan Carlos Gómez Blanco, María López Espino, Antonio Díaz Parralejo, Francisco Miguel Sánchez Margallo and José Blas Pagador Carrasco

Sistema de control de calidad automático para RM: AutoQ Francisco Javier Rodríguez Peña and Cristina Santa Marta

Clasificación de imágenes dermatoscópicas de Carcinomas Basocelulares usando Redes Neuronales Convolucionales Manuel Miranda, Begoña Acha and Carmen Serrano

Jueves 28 de noviembre (continúa)

Estudio de parámetros de Electroencefalografía Cuantitativa en patologías neurológicas Félix Fanjul Vélez, Selma Al Khalaf Álvarez and José Luis Arce Diego

Problemas con la descripción de los estudios en los sistemas de gestión de dosis: soluciones con herramientas de Business Intelligence (BI) Amaia Perez del Barrio, Pablo Menéndez Fernández-Miranda, Pablo Sanz, Enrique Marques Fraguela and Enrique Marco de Lucas

Serious game para la estimulación física de los mayores. Prueba de concepto

Francisco Manuel Esteban Gómez, Jose Luis Moyano-Cuevas, Luisa Sanchez-Peralta, Francisco Miguel Sanchez Margallo, Andreia Nicolau, Cláudia Vaz, Carolina Vila-Cha, Esteban Martinena, Pedro Nuñez Trujillo and Jose Blas Pagador

Neural respiratory drive assessment in respiratory sEMG with cardiac arrhythmias Abel Torres, Luis Carlos Estrada Petrocelli and Raimon Jané

Efecto de la hipoxia intermitente sobre la variabilidad de la frecuencia cardíaca evaluado en un modelo de ratas DANIEL ROMERO and Raimon Jané

Blockchain technology in healthcare: use cases and limits

José Javier Astrain Escola, Jesús D. Trigo, Luis Serrano-Arriezu, Francisco Falcone Lanas, Peio López-Iturri and Imanol Picallo Guembe

Análisis de dynalogs para el control de calidad del posicionamiento del MLC de un acelerador lineal

Nuria Gómez González, Cristina María Santa Marta Pastrana and Jaime Martínez Ortega

Aortic valve dynamic modelling with a meshless method.

Uxío Hermida, Èric Lluch, Mathieu De Craene, Bart Bijnens and Hernán G. Morales

Diseño e implementación de un sistema de apoyo a la valoración clínica del glaucoma basado en seguimiento de la mirada

Ignacio Martínez-Almeida, Paula Lampreave, José María Martínez de la Casa and Patricia Sánchez

Jueves 28 de noviembre (continúa)

12:45–14:15 Sesión: Premios José María Ferrero

- 12:45–13:00 Estudio de los Cambios en La Morfología de las Ondas T como Sustituto de la Concentración de Potasio en Sangre en Pacientes de Hemodiálisis
 Flavio Palmieri, Pedro Gomis, Dina Ferreira, José Esteban Ruiz, Beatriz Bergasa, Alba Martín-Yebra, Hassaan A. Bukhari, Esther Pueyo, Juan Pablo Martínez, Julia Ramírez and Pablo Laguna
- 13:00–13:15 Utilidad de nuevas bandas espectrales en la señal de HRV para ayudar en el diagnóstico de la apnea del sueño infantil Adrián Martín-Montero, Gonzalo César Gutiérrez Tobal, Daniel Álvarez González, Fernando Vaquerizo Villar, Verónica Barroso-García, Jorge Jiménez García, Leila Kheirandish-Gozal, Félix del Campo, David Gozal and Roberto Hornero
- 13:15–13:30 Groupwise Deep Learning-based Approach for Motion Compensation. Application to Compressed Sensing 2D Cardiac Cine MRI Reconstruction Elena Martín-González, Pablo Casaseca-de-la-Higuera, Luis Miguel San-José-Revuelta and Carlos Alberola-López
- 13:30–13:45 Influencia de la reserva cognitiva en los patrones neurofisiológicos asociados a la evolución de la enfermedad de Alzheimer
 Víctor Rodríguez-González, Victor Gutiérrez-de Pablo, Jesús Poza, Carlos Gómez, Miguel Ángel Tola-Arribas, Monica Cano del Pozo and Roberto Hornero
- 13:45–14:00 *Mimicking Soft Living Tissues for 3D Printed Surgical Planning Prototypes Using Different Materials* Aitor Tejo-Otero, Felip Fenollosa-Artés and Irene Buj-Corral
- 14:00–14:15 Modelado y simulación de mutaciones causantes de la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica
 Fernando Escobar Ropero, Miguel Angel Arnau Vives, Esther Zorio Grima, Javier Saiz and Lucía Romero
- 15:15-17:00 Sesión: Premios Grados en Ingeniería Biomédica
- 15:15–15:25 *EVE: A liquid handling robot based on LEGO Mindstorms* Ariadna Fosch Muntané, Letícia Galera and Jordi Garcia-Ojalvo
- 15:25–15:35 *El bloqueo de la corriente de calcio tipo-L dificulta la génesis y estabilidad de reentradas en tejidos formados por cardiomiocitos adultos y derivados de iPSC* Albert Dasí, Andreu M. Climent, Jose M Ferrero and Beatriz Trenor
- 15:35–15:45 Análisis de la morfología de la señal de la voz para la intubación de pacientes en una intervención quirúrgica
 Isabel Moragues Aguiló, Claudia Rodiera Clarens, Rosa Borrás Ramirez, Adaia Valls Ontañón, Sara Julián González, Ferran Callicó Ros, Josep Rodiera Olivé and Beatriz Fabiola Giraldo Giraldo
Jueves 28 de noviembre (continúa)

- 15:45–15:55 *Diseño de un protocolo de cultivo de neuronas sobre fibras de fibroína para aplicaciones neurorregenerativas* Juan Mercado Gómez, Milagros Ramos Gómez and José Pérez Rigueiro
- 15:55–16:05 Desarrollo de un microentorno mamario in vitro para el crecimiento de células tumorales como modelo de cáncer de mama en dispositivos microfluídicos Laura Zabalza and Oihane Mitxelena
- 16:05–16:15 Development of a Medical Device for Non-Invasive Diagnosis of Infantile Meningitis
 Alicia Pose and Luis Elvira
- 16:15–16:25 Desarrollo de tecnologías de micromecanizado para el sector point of care de diagnóstico
 Markel Gómez Sainz, Patxi Aristimuño, Florian Laouenan, Diana Enériz and Unai Ayala Fernández
- 16:25–16:35 *Design of a Sensing Force Platform to Assess Center of Pressure* Javier Cortina and Rafael Raya
- 16:35–16:45 *Haptic technology to tactile perception in robotic surgery* Arturo Yscadar, Antonio Alcaraz Asensio and Manel Puig-Vidal
- 16:45–16:55 Textural and Morphological Features for Grading Brain Cancer Images Jorge Tarancón Rey, Alberto Fernández Comseaña, Cristina Soguero Ruiz, Inmaculada Mora Jiménez and Dimitris Glotsos

17:00–18:00 Sesión de Pósteres IV

Master of Technological Innovation in Health: Implementation experience at Universidad Politécnica de Madrid Ignacio Oropesa, Patricia Sánchez González, Gerard Sou and Enrique J Gómez Aguilera

HTx: Marco para la próxima generación de Evaluación de Tecnologías Sanitarias en Europa M. Elena Hernando

Desarrollo de un asistente virtual enfocado a la educación gamificada en infecciones de trasmisión sexual

Jesús D. Trigo, Victoria Duro, Imanol Picallo, Peio López-Iturri, José Javier Astrain Escola, Francisco Falcone, Gregorio Tiberio and Luis Serrano-Arriezu

Plataforma mHealth ALIBIRD para la nutrición de precisión en cáncer Jose M. Iniesta, M. Elena Hernando, Enrique J. Gómez and Consorcio ALIBIRD2020-CM Proyecto S2018/BAA-4343

Jueves 28 de noviembre (continúa)

Validación preliminar de un juego serio desarrollado para la estimulación cognitiva de los mayores

Jose Luis Moyano-Cuevas, Francisco M Esteban-Gomez, Francisco M Sánchez-Margallo, Juan Francisco Ortega Morán, Vicente Gilete-Preciado, Carolina Vila-Cha, Esteban Matinena, Pedro Nuñez-Trujillo and Jose Blas Pagador

Sistema para la atención al paciente en ingresos hospitalarios

Nuria Salazar García, Diego Marcos Jorquera and Daniel Ruiz Fernández

Localización de pacientes de la UCI en un complejo hospitalario con múltiples edificios conectados por túneles

Jesús D. Trigo, Hicham Klaina, Imanol Picallo, Peio López-Iturri, José J. Astrain, Francisco Falcone and Luis Serrano-Arriezu

Spatial distribution and prevalence of continuous adventitious respiratory sounds in asthma

Manuel Lozano García, Clare M Davidson and Raimon Jané

Temporal Evolution of Bioimpedance and Respiratory Volume Signals during Inspiratory Loaded Breathing

Dolores Blanco-Almazán, Willemijn Groenendaal, Francky Catthoor and Raimon Jané

Development and characterization of cardiac bioinks from decellularized porcine hearts

Hector Sanz-Fraile, Susana Amoros, Irene Mendizabal, Carolina Galvez-Monton, Cristina Prat-Vidal, Antoni Bayes-Genis, Daniel Navajas, Ramon Farre and Jorge Otero

Análisis del Comportamiento de Canal Radioeléctrico en la Implantación de Servicios Contextuales del Internet of Medical Things

Imanol Picallo, Peio Lopez Iturri, Jesus Daniel Trigo Vilaseca, Jose Javier Astrain, Luis Serrano and Francisco Falcone

A facial expression recognition system for eHealth intervention platforms: A proof of concept

Maitane Puente Durán, Diego Moreno Blanco, Javier Solana, Patricia Sánchez and Enrique J Gómez Aguilera

Optimización en la extracción de datos mediante procesamiento de lenguaje natural en terapias de adicción a cocaína

Jose Tapia Galisteo, Yaiza Vega Vargas, Jose Iniesta, Carmen Pérez-Gandía, Gema García-Sáez, Diego Urgelés Puertolas, Francisco Jose Izquierdo Catalán and M. Elena Hernando

Jueves 28 de noviembre (continúa)

Sistema contextual para el seguimiento y monitorización remota de dispositivos semipermanentes

María Inés Corcuera, Amaya Mañeru, Ana Díez, Maddi Izal, Sara Maali, Peio López-Iturri, Marco Aldonza, Imanol Picallo, Beatriz Ibarra, Jesús D. Trigo, Lourdes Martín, José Javier Astrain, Leire Ozcoidi, Francisco Javier Falcone, Marta Ballesteros and Luis Serrano-Arriezu

Caracterización de la actividad eléctrica uterina durante la gestación, el parto y el postparto

Javier Mas, Gema Prats, Javier García, Alfredo Perales, Jose Alberola, Ángel López and Yiyao Ye

Desarrollo de un entorno virtual para la valoración clínica del glaucoma

Paula Lampreave, Ignacio Martínez-Aleida, José María Martínez de la Casa and Patricia Sánchez

Viernes 29 de noviembre

9:00–10:20 Sesión: Educación

- 9:00–9:20 Diseño y desarrollo de una aplicación para la formación de neurofisiólogos en la identificación de señales MER en cirugía de estimulación cerebral profunda. Marcos Gómez Tomé, Marta Naranjo Castresana, Patricia Sánchez, Cristian Rizea, Francisco Vivancos, Ana Rodríguez Sanz, Yolanda Herrero Infante, Saúl Marín Esteban, José Francisco Paz Solís, María Román de Aragón, Enrique J Gómez Aguilera, María Elena Hernando and Ignacio Oropesa
- 9:20–9:40 Diseño e implementación de un entorno de formación para el entrenamiento de ecografía transcraneal neonatal David Palomino, Andrea Balado, Javier Rubio, Eva Valverde, Marta Ybarra, Ignacio Oropesa, Enrique J Gómez Aguilera, Manuel Quintana, María Elena Hernando and Patricia Sánchez
- 9:40–10:00 Sistema de asistencia al aprendizaje de patologías respiratorias para estudiantes de medicina Alejandro Talaminos, Javier Reina, Laura Roa, Pilar Cejudo, Eduardo Márquez and Francisco Ortega
- 10:00–10:20 Metodologías para el incremento de la motivación del alumnado y la optimización de la acción tutorial lectiva en laboratorios de ingeniería biomédica
 Patricia Sánchez, Gema García-Saez, Eva González-Toldos, Diego Moreno-Blanco, Ignacio Oropesa, M. Elena Hernando and Enrique J Gómez Aguilera

9:00–10:20 Sesión: Planificación y Simulación Quirúrgica

- 9:00–9:20 Usability and Face Validity of the Virtual Soft Skills Game Luisa F. Sánchez-Peralta, Enrique Mediero, Carlos Rubiales, Ángel Rubio, Guillermo Casquero, Francisco Manuel Esteban Gómez, Francisco Miguel Sánchez Margallo and J. Blas Pagador
- 9:20–9:40 *Relación entre los movimientos oculares sacádicos y la carga cognitiva de los cirujanos durante la visualización de un procedimiento laparoscópico avanzado* Juan Francisco Ortega Morán, Vicente Luis del Campo, Francisco M. Sánchez Margallo and J. Blas Pagador
- 9:40–10:00 Clasificación de Tejido Tumoral y no Tumoral en Imágenes Multiespectrales de Biopsias de Mama Gloria Bueno, Javier Córdoba, Noelia Vallez and Lucia Gonzalez
- 10:00–10:20 *Validation and reliability of a new Hand-Held Dynamometer* Adriana Modrego, Roger Marginet, Ricardo Jauregui and Simone Balocco

Viernes 29 de noviembre (continúa)

9:00-10:20	Sesión: Telemedicina
9:00–9:20	Herramienta para la personalización de las medidas de protección radiológica en terapias metabólicas
	Patricia Gómez Valiente, Jose Iniesta, Paula García Castañón, Jose Tapia Galisteo and M. Elena Hernando
9:20–9:40	Mapas de correspondencias y auto-codificadores para el análisis de grupos de pa- cientes crónicos
	Noelia López-García, Cristina Soguero-Ruíz, Isabel Caballero-López-Fando, Ángel Gómez-Delgado and Inmaculada Mora-Jiménez
9:40-10:00	Servicio de Indexado de personas conforme a FHIR
	Isabel Román, Daniel García de Sola, Jorge Calvillo, Germán Madinabeitia and Juan Antonio Ternero
10:00-10:20	Implementación de un sistema de consulta de interacciones antirretrovirales medi- ante un asistente virtual
	Jesús D. Trigo, Victoria Duro, Imanol Picallo, Peio López-Iturri, José Javier Astrain
	Escola, Francisco Falcone, Gregorio Tiberio and Luis Serrano-Arriezu

BoneAnalytics: software para cuantificación ósea en imágenes de TAC

P.M.Berdón¹, N.Ballesteros^{1,2}, B.Bravo³, D.Lozano⁴, C.Heras⁴, A.Salinas⁴, M.Desco^{1,2,5,6}, M.Abella^{1,2,5}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Dept. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España

³ Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, España

⁴ Dept. Química en Ciencias Farmacéuticas; Fac. Farmacia; UCM, Madrid, España

⁵ Centro Nacional Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

⁶ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

El hueso es un tejido dinámico que sufre un continuo proceso de remodelado, lo que confiere al esqueleto su capacidad regenerativa y de adaptación funcional. Sus alteraciones son responsables de situaciones de fragilidad ósea y defectos críticos y cavitarios que no se repararían por sí mismos. Cuando se produce una fractura se desencadenan diversos procesos hasta la regeneración del hueso. El estudio de la remodelación ósea puede permitir establecer estrategias más exactas y fiables para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades ortopédicas.

En este trabajo presentamos una metodología para la cuantificación ósea, integrada en BoneAnalytics, una herramienta software que permite realizar distintas medidas para el estudio de hueso trabecular y cortical.

1. Introducción

El tejido óseo, constituido por tejido óseo esponjoso y compacto, compone uno de los sistemas mayores del organismo. Entre sus funciones destaca la de soporte, la cual requiere una correcta integración entre densidad ósea y calidad del hueso [1].

La regeneración ósea u osteogénesis es un proceso continuo que se basa en la destrucción y formación de nuevo hueso para adaptarse a nuevos requerimientos (fracturas, defectos cavitarios, defectos críticos, osteoporosis...). La formación de hueso es un proceso que puede verse comprometido en ciertas situaciones clínicas con defectos óseos críticos en los cuales el organismo no consigue promover la regeneración ósea, lesiones tumorales o enfermedades que afectan a la capacidad de regeneración ósea como son la osteoporosis o la pseudoartrosis. Para ello necesitan un material que además de ser un soporte tenga capacidad osteoinductora y osteoconductora. Actualmente el método más usado es el autoinjerto o aloinjerto [2], que presenta problemas asociados de morbilidad, transmisión de enfermedades, escasez y coste. Para evitarlos, las líneas de investigación en este campo se centran en la fabricación de soportes fabricados de biomateriales sintéticos cuya superficie se enriquece con moléculas osteoinductoras y células para obtener los llamados equivalentes tisulares. Para poder evaluar las distintas estrategias de forma objetiva, es necesario establecer metodologías de cuantificación de los resultados. Actualmente, el grado de regeneración ósea experimentada en los defectos se observa con técnicas histomorfométricas basadas en el uso de tinciones de cortes histológicos del defecto [3, 4].

La imagen por Rayos X proporciona una manera de realizar el análisis estructural sin necesidad de destruir la muestra. En la literatura se describen métodos de análisis 2D y 3D de éstas imágenes para hueso trabecular [5, 6], basados en modelos para la microestructura del hueso de plates o rods (small plate-width) [7]. Estos modelos establecen fórmulas que relacionan los parámetros trabeculares (número, grosor y separación de las trabéculas) con la superficie y el volumen ocupado por el tejido óseo y el volumen total de la muestra. En cuanto al software comercial, encontramos dos opciones: 3D Suite, comercializado por Bruker y VivaCT40, comercializado por Scanco. Estos paquetes software están desarrollados para los equipos de rayos X comercializados por dichas compañías no permitiendo adaptaciones a formatos de imagen diferentes, y son cerrados, dificultando la incorporación de nuevas medidas que puedan ser necesarias en un experimento concreto.

En este trabajo presentamos una metodología para la cuantificación del tejido óseo, integrada en una herramienta software diseñada siguiendo un enfoque modular con el fin de permitir flexibilidad para añadir nuevas funcionalidades.

2. Materiales y métodos

El método de cuantificación ósea se basa en el análisis de imágenes adquiridas de TACs de muestras de hueso con un defecto en el que se ha incluido material para favorecer la regeneración ósea.

Dado que en el proceso de regeneración aparecerá un aumento de volumen y de grosor del hueso cortical en la zona de defecto, así como un incremento del número de trabéculas y su separación, se incluyen un estudio trabecular y un estudio cortical. Para el primero, es necesario que los TAC se adquieran con una resolución espacial adecuada para la correcta visualización de textura en las zonas de hueso trabecular. Los parámetros normalmente analizados en los estudios histomorfométricos son el volumen total, la superficie del hueso y la superficie del osteoide, como se recoge en [8].

2.1. Estudio del aumento de volumen de hueso

Para el cálculo del aumento de volumen de hueso se calcula de dos formas: (1) el ratio entre el volumen de hueso y el volumen total en toda la zona del defecto (BV/TV) y (2) el ratio entre la superficie de hueso y superficie total en un corte axial representativo de la regeneración de hueso (BS/TS). La segmentación de hueso se hace por umbralización asegurando la elección de un umbral que seleccione solo el hueso trabecular y cortical formados.

2.2. Estudio trabecular

Para el estudio trabecular se calcula, el grosor trabecular (Tb.Th – *trabecular thickness*), el número trabecular (Tb.N – *trabecular number*) y la separación trabecular (Tb.Sp – *trabecular separation*), representados en la Figura 1. Estos parámetros se calculan en una ROI que solo contenga hueso trabecular, tras la segmentación del hueso por umbralización. Para facilitar la umbralización, se hace un realce de los bordes del hueso con un paso de "*unsharp masking*" [9].



Figura 1. Representación esquemática de los parámetros Tb.Sp, Tb.Th y 1/Tb.N. El hueso aparece representado en color gris y las cavidades que contienen la médula ósea en negro.

El grosor trabecular (Tb.Th) en mm se calcula como [5]

$$Tb.Th = \frac{2}{BP/BV} \tag{1}$$

donde BP (*bone perimeter*) es el perímetro de hueso trabecular calculado como la suma de todos los píxeles con valor 1 de la imagen calculada a partir de la resta de la imagen dilatada con un elemento estructurante y de la imagen segmentada.

El número trabecular, Tb.N, el número de trabéculas por unidad de longitud (unidades de mm⁻¹) como

$$Tb.N = \frac{\left(\frac{BV}{TV}\right)}{Tb.Th}$$
(2)

El último de los parámetros a calcular es la separación trabecular (Tb.Sp), es decir, el diámetro de las cavidades que contienen la médula espinal. Éste se calcula como

$$Tb.Sp = \left(\frac{1}{Tb.N}\right) - Tb.Th$$
(3)

2.3. Estudio cortical

El grosor cortical se calcula como la anchura del perfil a la mitad del máximo (FWHM) en un perfil en la zona del borde del defecto que contenga solo hueso cortical (línea azul a trazos en la Figura 2). Como dentro del hueso los valores son superiores a los de fuera, ajustamos la curva a trazos a un perfil simétrico (línea sólida azul en la Figura 2). Tras normalizar el perfil, el FWHM se calcula como se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Cálculo del FWHM. Hueso cortical con el perfil dibujado de color amarillo (izq) y perfil (dcha)

2.4. Herramienta BoneAnalytics

Los parámetros descritos previamente se han integrado en una interfaz, *BoneAnalytics*, desarrollada en MATLAB siguiendo un enfoque modular y basado en la programación orientado a objetos, con el fin de permitir flexibilidad para añadir nuevas funcionalidades.

BoneAnalytics se maneja a través de su interfaz gráfica de usuario, que se muestra en la Figura 3.



Figura 3. Interfaz de usuario

La interfaz de usuario permite cargar un estudio de TAC en unidades Hounsfield y variar el nivel y ventana de las imágenes, así como seleccionar el número de rodaja en las distintas vistas arrastrando el ratón en cada imagen.

Para el cálculo de la relación BV/TV se pueden seleccionar dos tipos de regiones de interés (ROIs), que corresponden a los botones "*Locate defect*" y "*Locate customized area*", siendo la región seleccionada en el segundo el doble de la del primero. La ROI de la selección "*Locate defect*" tiene un tamaño igual que el tamaño del defecto. Estas opciones se pueden observar en la Figura 3. Para segmentar el hueso aparece una ventana (Figura 4) en la que el usuario puede seleccionar el umbral.



Figura 4. Interfaz de cálculo de BV/TV

Para realizar el estudio cortical, el usuario debe posicionar una ROI rectangular de tamaño variable en una región de hueso trabecular y seleccionar un umbral para segmentar el hueso trabecular. Para facilitar la visualización de los bordes del hueso, la herramienta ofrece la opción de del botón "*sharpen*", como se puede observar en la Figura 5.



Figura 5. Interfaz del análisis trabecular con imagen sin sharpen (arriba) y con sharpen (abajo). En azul aparece representada la parte de hueso segmentada.

La Figura 6 muestra la ventana para el estudio cortical. El usuario debe seleccionar un perfil en los bordes del defecto para medir el grosor del hueso cortical.



Figura 6. Interfaz del análisis cortical

Todas las ventanas tienen la opción de guardar los datos medidos. Dentro de cada carpeta de imagen de estudio se genera un archivo de Excel y se guardan las imágenes de las distintas ROIs y segmentaciones realizadas. La Figura 7 muestra un ejemplo de los parámetros recogidos en el archivo Excel. Cada medida, tiene un identificador ("id" y "*Study name*") que relaciona los valores con la imagen a partir de la cual se obtuvieron.

Pixel size (mm) 0,058										
id	Study name	ROI position	ROI size -X	YWH-(px)			BV(px)	TV(px)	BV/TV	Threshold	Radio
	0 CT_0057_id_0	288	240.9517	330.1793	206.8966	517.2414	5600519	12308530	0,4550112	251,959128	1
	1 CT_0057_id_1	288	334.6759	445.4897	103.4483	258.6207	1134225	2227154	0,50927102	113,530748	6
	2 CT_0057_id_2	492	50 14.	5 361	361		3486	4550	0,76615385	120,9553	6 3
	3 CT_0057_id_3	423	199.1936	261.5451	221.1401	221.1401	4902	6090	0,80492611	110,538112	
	4 CT_0057_id_4	423	199.1936	261.5451	221.1401	221.1401	4308	6090	0,70738916	110,538112	8
	5 CT_0057_id_5	209	123.9211	161.6842	394.2105	394.2105					
ROI trabecular	r study -X Y W H	-(px)	ROI cortica	il study -X1	Y1 X2 Y2-(px) Tb.N	Tb.Th(mr	n Tb.Sep(m	r Cortical.Th	(mm Profile	
51.81178 13	5.9702 68.965	52 64.2591	15			0,071	54 0,621161	3 0,1895914	1		
192.0172 16	5.8966 68.965	52 86.206	9			0,041	54 1,123778	7 0,272347	3		
192.0172 16	5.8966 68.965	52 86.206	9			0,076	93 0,533327	6 0,220610	5		
			226 4705 2	42 7402 265	4204 274 86	01			0	696 522 153	5 2525

Figura 7. Ejemplo de archivo excel

3. Evaluación

La herramienta propuesta se ha evaluado en 27 imágenes del cúbito de conejo de un proyecto para evaluar la regeneración ósea posterior a la implantación de un vidrio mesoporoso bioactivo con células [10], osteostatina o ambas en un defecto provocado de 15 mm en la diáfisis del cúbito. Este material debe reabsorberse y desaparecer a la vez que ayuda a la aparcición de tejido óseo en su lugar. Se han comparado las mediciones con un estudio de un hueso control con el vidrio mesoporoso sin células ni osteostatina.

Para ello se han adquirido las imágenes de los huesos con el escáner de pequeño animal *SuperArgus* (SEDECAL). Todas las muestras fueron escaneadas con un voltaje de 65 kV y una corriente de 600 μ A, cubriendo 360 grados con un total de 720 proyecciones. El tamaño de pixel en proyección es de 0.075 mm y el tamaño de vóxel en reconstrucción de 0.058 mm isotrópico.

La Figura 8 muestra los cortes en los que se mide BS/TS, el número trabecular, el grosor trabecular y la separación trabecular en la zona de defecto.



Figura 8. Corte axial del hueso control (arriba) y hueso con defecto (abajo)

La Figura 9 muestra las regiones con defecto en las que se calcula BV/TV. El ratio BV/TV en la zona de defecto marcada en verde es mayor en el hueso con defecto que en el hueso control, como se muestra en la Tabla 1.

Analizando los resultados obtenidos para las mediciones del corte axial de la Tabla 2, se observa como para el hueso control, el volumen de hueso en la zona de defecto es nulo ya que se ha implantado el vidrio mesoporoso sin células ni osteostatina.



Figura 9. Corte sagital, ROI verde, hueso control (arriba) y hueso con defecto

BV/TV	ROI de defecto
Hueso control	0.085
Hueso con defecto	0.157

 Tabla 1. Ratio BV/TV para hueso control y hueso con defecto

		BS/TS	Tb.N	Tb.Th (mm)	Tb.Sep (mm)
Hueso		0	0	0	0
control Hueso defecto	con	0.239	0.055	0.313	0.994

 Tabla 2. Mediciones en corte axial para hueso control y con defecto

4. Discusión y trabajo futuro

Se ha presentado una metodología para cuantificación ósea integrada en una herramienta software diseñada siguiendo un enfoque modular con el fin de permitir flexibilidad para añadir nuevas funcionalidades. La herramienta permite medir aumento de volumen, grosor del hueso cortical en la zona de defecto, incremento del número de trabéculas y su separación, características que identifican el proceso de regeneración ósea según la literatura.

El cálculo de BS/TS se considera una buena aproximación para la medida de volumen regenerado en la zona del defecto ya que el usuario selecciona la rodaja de mayor interés. No obstante, esta medida se puede repetir en más de una rodaja, obteniendo un valor de BS/TS medio. Las medidas del estudio trabecular están condicionadas a la correcta segmentación, por lo que es necesario partir de imágenes TAC con buena resolución espacial y de contraste.

La evaluación preliminar del software en imágenes de cúbito de conejo en el que se ha implantado material biocerámico en un defecto de cúbito, muestra la capacidad de realizar una cuantificación semiautomática de los estudios sin necesidad de destruir la muestra, facilitando la labor del investigador. Los resultados analizados por un experto concuerdan con los obtenidos en el estudio histológico. En este caso, el tamaño y el tipo de la ROI del defecto están predeterminados, ya que el defecto se realizó de igual manera en todos los huesos del estudio. Para la cuantificación ósea de estudios donde el defecto fuera de tamaño variable, habría que definir una ROI que se adapte al tamaño del defecto de cada muestra, lo que se podría hacer de forma automática, ahorrando así tiempo por parte del investigador.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Instituto de Salud Carlos III, proyectos "DTS17/00122" y "PI15/00978"; Agencia Estatal de Investigación, proyecto "DPI2016-79075-R - AEI/FEDER, UE"), cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), "Una manera de hacer Europa". El CNIC está financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y la fundación PRO-CNIC y es un centro de excelencia Severo Ochoa (SEV-2015-0505). P.M. contrato subvencionado por la Conserjería de Educación e Investigación, Comunidad de Madrid, cofinanciado por el Fondo Social Europeo "El FSE invierte en tu futuro" (PEJ-2017-AI/SAL-7487).

Referencias

[1] Lafita J. Fisiología y fisiopatología ósea. An Sist Sanit Navarra. Vol. 26, Sup. 3, 2003, pp. 7-15.

[2] Calvo R, Figueroa D, Díaz-Ledezma C. Aloinjertos óseos y la función del banco de huesos. *Revista Médica Chile*. Vol. 139, 2011, pp. 660-6.

[3] Fernández L. Evaluación de la regeneración ósea in vivo de céramicas de HAp activadas con PRP y quitosanor-hBMP-2: Universidad Complutense de Madrid; 2014.

[4] Vidal B, Pinto A. Bone histomorphometry revisted. *Acta Reumatol Port.* Vol. 37, 2012, pp. 294-300.

[5] Silva AMHd, Alves JM, Silva OLd, Silva Junior NFd. Two and three-dimensional morphometric analysis of trabecular bone using X-ray microtomography (μCT). *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*. Vol. 30, Sup. 2, 2014, pp. 93-101.

[6] Hildebrand T, Laib A, Müller R. Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bonemicrostructural data from spine, femur, iliac crest an calcaneus. *Journal of bone and mineral research*. Vol. 14, Sup. 7, 1999.

[7] Feldkamp L, Steven A. The direct examination of threedimensional bon architecture in vitro by computed tomography. *Journal of bone and mineral research*. Vol. 4, Sup. 1, 1989.

[8] Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, et al. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. Vol. 28, Sup. 1, 2013, pp. 2-17.

[9] Gonzalez R, Woods R. Digital Image Processing.

[10] Heras C, Sanchez-Salcedo S, Lozano D, Pena J, Esbrit P, Vallet-Regi M, et al. Osteostatin potentiates the bioactivity of mesoporous glass scaffolds containing Zn(2+) ions in human mesenchymal stem cells. *Acta biomaterialia*. Vol. 89, 2019, pp. 359-71.

CONSTRUYENDO MAPAS DE HETEROGENEIDAD TUMORAL

Laura Nicolas-Saenz¹, Arrate Muñoz Barrutia^{1,2}

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

²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

Resumen

En este trabajo presentamos un nuevo método para evaluar las variaciones en la expresión de proteínas y la heterogeneidad espacial de biopsias tumorales. Esta idea fue puesta en práctica con diferentes antígenos para cada corte de tejido usando un complejo proceso de registro de imágenes seguido por un paso de segmentación de color para detectar la posición exacta de las proteínas que queremos estudiar. Para que esta idea fuese factible, el registro debía ser totalmente preciso. Sin embargo, esto lleva consigo tres grandes problemas: la gran cantidad de artefactos debidos a la compleja preparación, el tamaño de las imágenes y la complejidad de la morfología local.

Nuestro método es capaz de conseguir un registro preciso de los cortes de los tejidos y una excelente segmentación de las áreas en las que se encuentra el antígeno. El proceso de registro fue evaluado mediante una métrica de reducción de distancia de landmarks (m. r-TRE= 0.002) y un porcentaje de solapamiento (81%). La fase de segmentación fue evaluada usando los coeficientes de Dice (0.97) y Hausdorff (10.96 μ m).

1. Motivación

En una investigación de cáncer, se obtiene información sobre la heterogeneidad del tumor, las interacciones moleculares, y su evolución a partir de la observación de secciones histológicas teñidas. Todo con el objetivo de determinar el grado y el estadio del tumor, así como la sensibilidad a posibles tratamientos. Desgraciadamente, estos estudios son largos, subjetivos y propensos a error.

Nuestra intención es, mediante métodos de registro y segmentación, definir un método automático y no supervisado para la creación de mapas que expliquen la heterogeneidad espacial tumoral.

1.1. Estado del arte

Los algoritmos de registro de imagen intentan encontrar una transformación geométrica que sea capaz de mapear una imagen destino a una imagen referencia por medio de la optimización de una métrica de error [1].

El registro de biopsias aún no se ha aplicado a la patología computarizada debido a su alta complejidad; no hay forma conservada para las biopsias; no hay puntos de referencia que se puedan usar para colocar los cortes; debido a que son tan finos y frágiles, estos suelen tener roturas y dobleces y hay una gran variabilidad visual entre las biopsias incluso de una misma tinción.

La **segmentación** de imagen consiste en la detección de las estructuras relevantes en una imagen. En este caso, se usa segmentación de color para detectar las áreas de la biopsia que marcan positivo de antígeno y usar esta información para conseguir una valoración del tumor. La segmentación de color ha tenido grandes avances para tinciones de Hematoxilina y Eosina (HyE). Sin embargo, hay pocos métodos que sean capaces de segmentar robustamente la zona de antígeno positivo en biopsias immunohistoquímicas (IHC). El método no supervisado más usado en la actualidad es el de deconvolución de color, propuesto por Ruifrok *et al.* [2].

2. Materiales y Métodos



Figura 1: Explicación resumida de nuestra propuesta.

2.1. Imágenes

Se utilizaron cortes de material quirúrgico obtenido de pacientes con adenocarcinoma gástrico obtenidos del reto Automatic Non-Rigid Histological Image Registration (ANHIR) [1] con cuatro marcadores inflamatorios del cúmulo de diferenciación: CD1, CD4, CD8 y CD68. Para el desparafinado y recuperación de antígeno se usaron Thermo Dewax y HIER Buffer L, ph6. Las preparaciones fueron observadas con un microscopio Leica DM LB2 por dos patólogos. La digitalización se realizó usando un scanner Leica Biosystems Aperio AT2 con resolución 40x. Las imágenes obtenidas presentaban roturas, pérdidas de tejido y dobleces.

Se usaron datos de nueve pacientes, cada uno con 4 imágenes y dos ficheros de *landmarks*. Las biopsias tenían un tamaño medio de 60k x 75k píxeles y una resolución de 0.2528 μ m/píxel. Sin embargo, debido al coste computacional se usó una resolución inferior (5%) con tamaño de 5k x 3k píxeles y resolución de 5 μ m/píxel.

Los archivos de *landmarks* se usaron para la evaluación de los resultados del algoritmo de registro. Estos puntos fueron colocados por cuatro profesionales y marcan estructuras importantes en los cortes de las biopsias.

2.2. Hardware

Se usó MATLAB 2019 en un clúster con CPU Intel Xeon 4110 con 16 núcleos, 32 hilos, 2.1 Ghz, 64GB de RAM y DDR4 de 2400MHz. El servidor usado fue un SKY-6000 Advantech.

2.3. Registro de imagen

Para el registro, queríamos la transformación $T: (x, y) \rightarrow (x', y')$ que asignara los puntos de la imagen objetivo I(x, y) en sus puntos correspondientes de la imagen de referencia I(x', y').

Para esto, se desarrolló una transformación con una prealineación robusta, una transformación global y una transformación local.

La alineación y el movimiento global se utilizan para describir el movimiento general de la biopsia. Este modelo se utiliza para registrar la forma global de la biopsia y, por tanto, se aplica a una máscara binaria aproximada sin los detalles locales de la biopsia.

El modelo de movimiento local se refiere a la estructura interna de la biopsia. Se calcula utilizando las imágenes en niveles de gris después de la transformación global.

Pre-alineación

Se detectan los centros de masa de las máscaras binarias de ambas imágenes y se calcula la traslación inicial. Una vez alineadas, se calcula la rotación óptima de la máscara de la imagen objetivo rotándola en incrementos de 10º para localizar el máximo valor de la correlación cruzada.

Modelo global

El movimiento global consta de un registro afín y un registro no rígido suave para refinar.

Con la transformación afín se modifica la forma y las estructuras locales de la biopsia, por lo que se deben utilizar restricciones en las deformaciones permitidas para evitar modificaciones drásticas en las estructuras internas.

La transformación afín basada en la intensidad se calcula entre la máscara binaria de la imagen referencia y la imagen rotada de la imagen en objetico utilizando 3 niveles piramidales gaussianos para refinar. La optimización de esta transformación se calcula utilizando el descenso de gradiente con el error cuadrático medio.

Después de la transformación afin, se aplica un paso de post-procesamiento que soluciona el desajuste en los bordes de las máscaras. Para ello, usamos una transformación no rígida de *diffeomorphic demons* [3].

En este caso, se utilizó la implementación Matlab con 3 niveles piramidales, 100 iteraciones, suma cuadrada de diferencias como medida de similitud, y suavizado de campo gaussiano para la regularización.

Por último, la transformación final calculada con las máscaras binarias se aplica a la imagen objetivo original.

Modelo local

Se utilizó una deformación de forma libre (FFD) basada en B-splines [4]. La FFD funciona mediante la manipulación local de una malla de puntos de control. Esta malla está optimizada y produce una transformación continua regular de C2 que luego se aplica a la imagen objetivo para obtener el resultado final de registro. Se eligió un espaciado de malla uniforme, μ de [50,50] píxeles, de manera que el movimiento de un punto de control sólo afecta a los puntos vecinos en un entorno de $4\mu x 4\mu$ (Figura 2).



Figura 2: Ejemplo de la malla de control con un punto activo (amarillo) controlando su entorno de 4 μ x4 μ .

La diferencia logarítmica fue la métrica elegida como función de similitud después de validar que era la que mejor reducía la distancia entre *landmarks*.

$C_{sim} = Log(abs(I_o - I_r))$ Ec. (1): Función de similitud

Ec. (1): Funcion de similitud

Los parámetros óptimos de la FFD se calcularon usando la ecuación 2, que consta de dos términos; C_{sim} , y C_{Reg} , que está relacionado con la regularidad de la transformación final. Lambda λ es la función de regularización. En este caso, se probó que $\lambda = 0.01$ era el mejor valor para este parámetro.

$C(\phi) = -C_{sim}(I_r, TI_o) + \lambda C_{Reg}(T)$

Ec. (2): Función de coste

La optimización se realiza en varios pasos. Primero, los puntos de control φ se optimizan con la función de coste usando *steepest gradient descent*. Cuando el algoritmo encuentra un óptimo local ($|| \Delta C || \leq E$) para un valor positivo pequeño) de la función de coste, o cuando alcanza el límite de iteración, se detiene, suponiendo que el óptimo local puede ser intercambiable. Se utilizaron un límite de 70 iteraciones y un valor E= 1.0 e-6.

Se usa la FFD para el modelo local en vez de los *demons* del modelo global debido a que el campo de trasformación final de la FFD se corresponde más con las deformaciones reales de las estructuras internas [5].

2.4. Evaluación del registro

Se evaluó el algoritmo con las dos métricas más comunes: distancia entre *landmarks* y porcentaje de solapamiento. La métrica propuesta en el desafío ANHIR fue la mediana de la reducción de distancia euclídea (rTRE Ec.4) entre *landmarks*: mediana-rTRE [1].

$$rTRE = \frac{TRE}{\sqrt{(ancho^2 + largo^2)}}$$

Ec. (4): Reducción de distancia euclídea

La mediana de TRE se calcula para evitar valores atípicos.

Porcentaje de solapamiento entre imágenes registradas

La evolución de la distancia entre *landmarks* no tiene en cuenta el aspecto global. Por lo tanto, también calculamos el porcentaje de solapamiento después del registro.

2.5. Segmentación de color

Desarrollamos un método computacional robusto capaz analizar biopsias tumorales de forma rápida y efectiva para la segmentación de IHCs que analiza las biopsias a partir de cuadrados, o *tiles*, de la imagen original. El método de segmentación se basa en la bisección a través de su diagonal del histograma doble de rojo-azul de las imágenes: triángulo superior: morado, triángulo inferior: marrón (Figura 3).

Se probó la validez de este método con los datos utilizando una segmentación de referencia creada con el algoritmo entrenable de segmentación WEKA usando perceptrón multicapa. WEKA es un plugin de segmentación supervisada del software ImageJ utilizado y validado en la literatura [6].

Durante el entrenamiento se usaron dos clases para iniciar la segmentación: biomarcador (antígeno) y fondo. Con estas clases, realizamos el etiquetado manual de 4 tiles por antígeno para cada uno de los pacientes con diez etiquetas manuales por *tile*. El programa fue entrenado con estas etiquetas utilizando como clasificador un perceptrón multicapa. Una vez entrenado, fue capaz de segmentar y clasificar las dos clases en el resto de *tiles* de cada tinción. Con las clases se crearon máscaras binarias que se usaron para la evaluación técnica del método de segmentación propuesto.



Figura 3: Idea de nuestro algoritmo de segmentación de color.

Evaluación de la segmentación

Las medidas utilizadas fueron el coeficiente de similitud de Dice y la distancia de Hausdorff.

$$Dice(A_B, W_B) = \frac{2(A_B \cap W_B)}{|A_B| + |W_B|}$$

Ec. (6): Ecuación coeficiente Dice, donde $A_{\rm B}$ y $W_{\rm B}$ son las máscaras binarias.

 $h(A_B, W_B) = \max\{\min\{d_e(a, b)\}\}$

Ec. (7): Distancia de Hausdorff. de es distancia euclídea.

3. Resultados

3.1. Registro de landmarks

Después del registro se obtuvo una media de medianarTRE = 0.0022 con una desviación estándar de 0.0012 y una robustez del 100%. Para comparar con el desafío ANHIR [1], el ganador alcanzó 0.0014 mediana RTRE y una robustez del 100% (Figura 4). Las deformaciones resultantes no contienen pliegues (Figuras 5 y 6).



Figura 4: Boxplot de mediana-rTRE tras cada paso de registro.

3.2. Mapa de solapamiento del registro

Modelo global

Los resultados de superposición después del registro global para las 36 biopsias están en la Tabla 1.

Solapamiento	1 (Sin)	2	3	4 (Completo)
Mediana (%)	15.10	9.30	12.43	63.17
Desviación estándar	6.31	4.20	4.20	9.64

Tabla 1: Resultados del porcentaje de solapamiento después del registro global.

Modelo local

Debido al coste computacional, solo calculamos el registro con modelo local en dos cortes por paciente (CD4 y CD68). Por ello, la medida de superposición solo puede ser 1 (sin superposición) o 2 (superposición completa).

Solapamiento	1 (Sin)	2 (Completo)
Mediana (%)	19	81
Desviación estándar	4.7	3.90

Tabla 2: Resultados del porcentaje de solapamiento después del registro local.

3.3. Segmentación de color

Los resultados finales del coeficiente de similitud de Dice tienen una media de 0.97 y una desviación estándar de 0.03. Los resultados para la distancia de Hausdorff tienen una media de 10,96 µm y una desviación estándar de 3.97 μm (diámetro celular 25.48 μm). El tiempo necesario para la segmentación de 100 tiles fue de 20 segundos con el algoritmo propuesto y de 20 minutos con WEKA.

3.4. Mapa final de heterogeneidad

Para el mapa de heterogeneidad cada corte transformado se sometió a nuestro algoritmo de segmentación de color, y las máscaras binarias obtenidas se sumaron para obtener la distribución de inflamación (Figura 7).

4. Discusión

Los resultados de nuestro método de registro de cortes de biopsias son muy alentadores. En estas figuras podemos ver que, mientras que en general el registro global es bastante bueno (blanco), las estructuras locales no están bien alineadas (rojo, amarillo, azul), pero gracias a la transformación local, se consiguen alinear las estructuras internas sin deformarlas y casi proporcionar una alineación perfecta, como queda claro en el número de landmarks verdes. Además, los resultados de las Tablas 1 y 2 apoyan la idea de que el algoritmo funciona.

Los resultados de la segmentación de color muestran que nuestro método es robusto y eficiente y presenta una gran ventaja sobre la mayoría de los otros métodos al ser completamente no supervisado.

5. Conclusiones

Las ventajas de nuestro método para crear mapas de heterogeneidad tumoral son su robustez y su carácter completamente automático y no supervisado. En comparación con otros algoritmos de segmentación y registro, nuestra propuesta consigue resultados de registro similares y mejores resultados de segmentación sin la necesidad de anotaciones manuales ni entrenamiento. Los mapas de heterogeneidad tumoral creados proporcionan una representación visual muy útil del microambiente tumoral y de la heterogeneidad del tejido. Además, estos mapas también pueden servir como entrada automática, no supervisada, generada por computadora para el entrenamiento de redes neuronales convolucionales profundas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos del Ministerio de Ciencia y Competitividad (TEC2015-73064-EXP, TEC2016-78052-R and RTC-2017-6600-1) y una beca Leonardo para Investigadores y Creadores Culturales 2017, Fundación BBVA. Se agradecen a Laura Quintana las anotaciones manuales de los cortes y a Javier Pascau la orientación.



C)



D)



Figura 6: Antes (A) y después (B) de la transformación local.



Figura 7: Mapa de heterogeneidad del tumor con la distribución espacial de la inflamación en la biopsia de los marcadores mencionados en la Sección 2.1. (0=sin antígeno. 4= antígeno en todos los cortes)

Referencias

- [1] Borovec, J., Munoz-Barrutia, A., & Kybic, J. (2018). Benchmarking of Image Registration Methods for Differently Stained Histological Slides. Proceedings -International Conference on Image Processing, ICIP, 3368-3372.
- [2] Arnout C. Ruifrok, Dennis A. Johnston, et al. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. Analytical and quantitative cytology and histology, 23(4):291–299, 2001.
- Vercauteren, T., Pennec, X., Perchant, A., & Ayache, N. [3] (2009). Diffeomorphic demons: Efficient non-parametric image registration. NeuroImage, 45(1), S61-S72.
- [4] Rueckert, D., Sonoda, L. I., Hayes, C., Hill, D. L. G., Leach, M. O., & Hawkes, D. J. (1999). Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. IEEE Transactions on Medical Imaging, 18(8), 712–721.
- [5] Dirk-jan kroon, B-spline grid, image and point based registration - file exchange - matlab central.
- Arora, R., Asstt, S., & Cse, D. (2012). Comparative [6] Analysis of Classification Algorithms on Different Datasets using WEKA. In International Journal of Computer Applications (Vol. 54).

Clasificación de imágenes de ultrasonido fetal mediante redes neuronales

P. Delgado Rodriguez¹, J. de León Luis², M. Ruiz Minaya², M. Concepción Brito¹, A. Muñoz García³, J. Pascau González-Garzón¹

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

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

³Departamento de Estadística, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España

Resumen

La imagen médica de ultrasonido es muy utilizada al observar el desarrollo fetal durante el embarazo. Para hallar las estructuras de interés es necesaria cierta experiencia, lo que dificulta la tarea a médicos noveles. Con el fin de facilitarla se propone un algoritmo para clasificar automáticamente imágenes de ultrasonido fetal en categorías definidas por un ginecólogo experto. Se han utilizado redes neuronales convolucionales, que recientemente han demostrado superar las limitaciones de los métodos convencionales en este tipo de imágenes. Se han evaluado varias arquitecturas, incluyendo en algunas de ellas mapas de activación Soft Proposal que proporcionan información visual. La arquitectura basada en ResNet18 obtuvo las mayores exactitudes: 86.18% con la arquitectura base y 83.41% incluyendo Soft Proposal. Estos resultados han sido obtenidos con conjuntos de entrenamiento, validación e inferencia que no tienen en cuenta el paciente del que procede cada imagen. Tras esto, utilizando una nueva organización de las imágenes en conjuntos creados a partir de grupos de pacientes, se ha evaluado esta red de cara a su aplicación a nuevos individuos sobre los que no se haya entrenado. Los resultados en este caso son más limitados, lo que puede deberse al bajo volumen de imágenes de entrenamiento y a la alta variabilidad entre pacientes. A pesar de esto, creemos que nuestros resultados indican un potencial para desarrollar una herramienta de apovo útil para los ginecólogos.

1. Motivación

Dentro de las distintas modalidades de imagen médica, la imagen por ultrasonido o US presenta ventajas como la utilización de radiación no ionizante y el empleo de un equipamiento de bajo coste. Es por ello que esta modalidad se usa de forma común para evaluar el desarrollo del feto durante el embarazo. La imagen se obtiene a partir de ondas sonoras emitidas por una sonda posicionada sobre la piel del paciente. Estas ondas atraviesan los tejidos, reflejándose en algunos de ellos y enviando nuevas ondas de vuelta o ecos. El tiempo que tardan en regresar se emplea para determinar la profundidad y composición del tejido de reflexión, creando un mapa del interior del cuerpo de forma no dañina. El ecógrafo (máquina de ultrasonido) estándar se opera manualmente para producir imágenes tomográficas. Esta forma de adquisición, unida al hecho de que la calidad de imagen es baja comparada con otras modalidades, hace que no sea trivial encontrar estructuras clave de la anatomía fetal. En la Figura 1 se observa un ejemplo de estas imágenes.

Un ginecólogo experto puede detectar las estructuras que aparecen en las imágenes de forma rápida, pero un médico novel debe ser instruido para reconocerlas adecuadamente, lo que puede ocasionar un gasto de tiempo considerable.

Con el fin de apoyar a estos profesionales y reducir la cantidad de tiempo empleado por expertos en su formación se ha propuesto la creación de un algoritmo capaz de clasificar automáticamente imágenes de ultrasonido fetal en una serie de categorías, definidas por un ginecólogo. Se parte de la hipótesis de que observar la información que proporcionaría este algoritmo al mismo tiempo que se toman las imágenes puede servir como guía y facilitar el aprendizaje.



Figura 1. Ejemplo de imagen de ultrasonido fetal

Para resolver esta necesidad clínica se plantea un clasificador basado en Redes Neuronales Convolucionales o CNN (Convolutional Neural Networks), especialmente optimizadas para su uso sobre imágenes. Se ha elegido este método debido a los recientes resultados prometedores en aplicaciones sobre imágenes de esta modalidad [1-4]. Es conocido que las características de ruido y contraste de las imágenes de ultrasonido dificultan la extracción de parámetros que puedan servir de entrada a otros métodos más simples de clasificación.

Además de redes convolucionales que proporcionen únicamente resultados de clasificación, también se han implementado arquitecturas incluyendo una capa Soft Proposal [3,4], que crea un mapa de activación indicando qué regiones de la imagen han activado la red. Esta solución proporcionaría una ayuda visual extra al usuario.

2. Adquisición y etiquetado de las imágenes

La adquisición de imágenes de pacientes por parte del ginecólogo se realizó en el servicio de obstetricia y ginecología del Hospital Gregorio Marañón. Se tomaron 23 vídeos de diferentes pacientes con un ecógrafo Samsung WS80 que fueron convertidos en series de fotogramas, con media de ~64 imágenes por vídeo y un total de 1473 imágenes. Las imágenes fueron etiquetadas por dos especialistas en ginecología del equipo como pertenecientes a una de las siguientes clases:

- Cuatro cámaras (corte correspondiente al miocardio)
- Abdomen
- Cabeza
- Aorta (arteria)
- Pulmonar (arteria)
- Tres vasos tráquea (corte que incluye tráquea, arteria aorta, arteria pulmonar y vena cava superior)
- Otros (no se clasifican como ninguna de las anteriores)

3. Procesado de las imágenes

Dada la gran variabilidad de los vídeos, algunas de las clases estaban compuestas por un número demasiado bajo de imágenes. Incluirlas en el algoritmo habría causado problemas en el entrenamiento ya que los grupos no estarían equilibrados y además las pocas imágenes disponibles no capturaban suficiente variabilidad para obtener una clasificación robusta, por lo que se usaron para entrenamiento e inferencia solo las imágenes pertenecientes a las 5 clases que presentaban al menos 50 ejemplos: 'Abdomen', 'Aorta', 'Cuatro cámaras', 'Otros' y '3 vasos tráquea'.

Los vídeos utilizados en el proyecto incluían diferentes formas del campo de visión del ecógrafo y en algunos de ellos solo aparecían imágenes pertenecientes a un número muy bajo de clases, mientras que en otros todos los fotogramas incluían una zona relativamente oscurecida. Debido a ello las imágenes disponibles presentaban una gran variabilidad, lo que podría suponer un problema de cara a la generalización del algoritmo. Para proporcionar a la red imágenes con la mayor variedad de características durante el entrenamiento y mejorar sus resultados se seleccionaron en una primera fase los conjuntos de entrenamiento, validación e inferencia a partir del total de imágenes, sin tener en cuenta el vídeo del que provenían. A pesar de utilizar para inferencia imágenes similares a las de entrenamiento (provenientes de los mismos vídeos), los resultados obtenidos nos darían una idea del clasificador más adecuado de cara a desarrollar métodos más robustos y generalizables. El total de imágenes se dividió en esta primera fase de la siguiente forma: 70% para entrenamiento, 15% para validación, 15% para inferencia. Estos porcentajes se mantuvieron dentro de cada clase, con el fin de equilibrarlas en todos los conjuntos.

Una vez evaluadas las redes en la primera fase y tras observarse la gran variedad de morfologías contenidas en la clase 'Otros', se decidió prescindir de ella en una segunda fase de entrenamientos con la hipótesis de que podía estar condicionando las respuestas del clasificador de cara a clases más relevantes. En esta segunda fase los conjuntos de entrenamiento, validación e inferencia se compusieron manteniendo todas las imágenes de cada vídeo en un mismo conjunto para permitir la evaluación de la red en pacientes que no hubiesen sido usados durante el entrenamiento. 3 vídeos fueron descartados al contener solo la clase 'Otros' y, de los restantes, se seleccionaron aleatoriamente 17 como datos de entrenamiento, 3 como validación y 3 como inferencia. Una vez reorganizadas las imágenes, se aplicó aumento de datos a las del conjunto de entrenamiento para que todas las clases estuvieran igualmente representadas, aumentando el número de imágenes de cada una para igualarse a la más frecuente.

Utilizando los nuevos conjuntos de entrenamiento y validación se ejecutaron dos análisis por medio de validación cruzada. El conjunto de inferencia se mantuvo aparte para representar a pacientes que no conociera la red de cara a desarrollos posteriores.

Los dos análisis tuvieron como objetivo evaluar de forma más relevante la aplicación del clasificador a datos nunca vistos previamente. Al ejecutarse de una manera iterativa utilizaron en cada paso diferentes imágenes para el entrenamiento, proporcionando medidas más generales de sus resultados con datos aleatorios. Ambos se explican con mayor detalle en la sección 5.

4. Primera fase - Comparación de clasificadores

En la primera fase se usaron una serie de arquitecturas de CNN que fueron entrenadas desde cero usando los datos de entrenamiento y validación del proyecto para obtener resultados de exactitud sobre los datos de inferencia. Todo el entrenamiento de redes neuronales se llevó a cabo en una GPU Nvidia Titán X de 12 GB.

La estructura de las CNN se basa en una serie de filtros que son aplicados como combinación lineal (convolución) a una imagen de uno o varios canales para transformarla, obteniendo sus características en el proceso. Capas que incluyen convolución y una función de activación no lineal son aplicadas de manera secuencial a la imagen para transformarla. Al entrenar la red, se minimizó la distancia entre este vector y la etiqueta real de las imágenes de entrenamiento. El conjunto de validación se tuvo en cuenta para evitar el sobreajuste y generalizar el algoritmo. Cada 5 épocas del entrenamiento se calculó el mAP (mean Average Precision) [5] como medida de la calidad de la red sobre los datos de validación, eligiendo como parámetros finales los que correspondían a la época con mayor mAP en validación.

Los valores para los hiperparámetros de entrenamiento (tasa de aprendizaje, número de épocas...) se obtuvieron a partir de [4], iniciándose los valores de los pesos de forma aleatoria. Una vez entrenado, se aplicó cada algoritmo al conjunto de inferencia y se midió su exactitud. Como se explica en el apartado 3, los conjuntos de entrenamiento, validación e inferencia utilizados en esta fase se obtuvieron a partir del total de imágenes, manteniendo los porcentajes en cada clase y sin considerar el vídeo de procedencia. Las CNN utilizadas fueron implementadas sobre el paquete PyTorch en Python y se basaron en códigos desarrollados en [4]. Las arquitecturas, que eran conocidas y habían ofrecido buenos resultados de acuerdo con la literatura, fueron adaptadas para aceptar los datos como input. En algunos casos se introdujo una capa SP (Soft Proposal) en substitución de las últimas capas lineales o Fully Connected (FC). La capa SP obtiene un mapa de activación que muestra qué regiones de la imagen están activando la red, es decir, puede marcar las características de la imagen han causado que se identifique como perteneciente a esa clase. Se observó no obstante que esta capa podía reducir levemente la exactitud. Debido a esto se usaron versiones con y sin SP para cada arquitectura. Las arquitecturas utilizadas (sin preentrenamiento) fueron:

- AlexNet: basada en la arquitectura de [6]
- AlexNet con capa SP: sustituye sus capas FC por una SP.
- VGG13 reducida: se basa en [7] omitiendo las cuatro capas FC finales
- VGG13 con capa SP: sustituye sus FC por una SP.
- ResNet18: basada en [8]
- ResNet18 con capa SP: sustituye sus FC por una SP.
- ResNet18 con capa SP y 3 capas convolucionales extra: al tener ResNet SP los mejores resultados con capa SP, se aumentó su profundidad para tratar de mejorar los resultados.

5. Segunda fase - Validación cruzada

Tras determinar la red ResNet18 como el clasificador más adecuado, se usó ésta para evaluar su eficiencia mediante entrenamientos con los mismos hiperparámetros anteriores pero diferentes conjuntos de datos. Como se ha mencionado en el apartado 3, se prescindió de las imágenes de la clase 'Otros' y los conjuntos de entrenamiento, validación e inferencia se reestructuraron, estando compuestos ahora de vídeos completos para permitir la evaluación de resultados sobre pacientes cuyas imágenes no aparecieran en el entrenamiento. Se incluyeron 17 vídeos en el conjunto de entrenamiento, 3 en el de validación y otros 3 en el de inferencia. Se realizó también aumento de datos en el conjunto de entrenamiento para todas las clases menos la más representada. Durante los dos análisis de validación cruzada se utilizaron los conjuntos de entrenamiento y validación, no el de inferencia.

El primer análisis consistió en entrenar la red iterativamente siguiendo un proceso "leave-one-out", en el que cada vez se escogía una imagen del conjunto de validación y se entrenaba la red sobre el conjunto de entrenamiento y el resto de imágenes de validación. Al terminar cada entrenamiento se obtuvo el resultado de clasificación de la red sobre la imagen extraída. Estos valores fueron almacenados y analizados posteriormente para dar una idea del rendimiento general de la red sobre imágenes variadas.

Como segundo análisis, se realizó un proceso equivalente de validación cruzada, en este caso manteniendo un vídeo entero en lugar de una sola imagen fuera de la red. En cada paso de la iteración, la red se entrenó con el conjunto de entrenamiento más todo el conjunto de validación excluyendo las imágenes pertenecientes a uno de los vídeos. Sobre las imágenes de este vídeo se aplicó la red para obtener resultados de clasificación. Cada paso mantuvo uno de los vídeos apartado, por lo que finalmente se consiguieron una serie de puntuaciones de clasificación correcta correspondientes a cada uno de ellos, pudiendo obtener resultados de clasificación total al combinarlos. Este método permitió evaluar la generalización del algoritmo sobre pacientes nunca antes observados.

6. Resultados

6.1. Primera fase

La Tabla 1 y la Tabla 2 muestran los resultados en la primera fase. Estos incluyen tiempo total de entrenamiento, tiempo estimado de inferencia por imagen y valor de exactitud total para cada arquitectura.

Arquit.	AlexNet	AlexNet-SP	VGG13 reduc.	VGG13-SP
Tiempo entren.	5.99m	6.16m	6.56m	6.48m
Tiempo inf./ im.	0.0321s	0.0418s	0.0448s	0.0365s
Exact.	68.2%	34.56%	83.87%	82.03%

Tabla 1. Resultados de CNN con AlexNet y VGG13

Arquit.	ResNet18	ResNet18-SP	ResNet18-SP+3conv
Tiempo entren.	6.25m	6.27m	5.98m
Tiempo inf./ im.	0.0322s	0.0436s	0.0353s
Exact.	86.18%	83.41%	83.41%

Tabla 2. Resultados de CNN con ResNet18

Las exactitudes de ResNet18 (86.18%) y ResNet18 con SP (83.41%) mostraron los mejores métodos de clasificación. ResNet18 con SP y 3 capas extra obtuvo el mismo resultado que sin ellas, por lo que se desestimó por simplicidad. La clase "Aorta" no se predijo correctamente en absoluto, lo que pudo deberse a la menor cantidad de ejemplos o a que éstos eran similares a los de otras clases. Esto impulsó el aumento de datos en la segunda fase. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de mapas de calor producidos por ResNet18 con SP.



Figura 2. Ejemplo de mapas de calor de ResNet18 con SP

6.2. Segunda fase

La validación cruzada con una imagen obtuvo estos resultados de clasificación correcta para cada clase (Tabla 3), marcándose las ocasiones en que la segunda opción fue la clase correcta como # Correcto secundario. La exactitud total fue 0.871, alta para este tipo de imágenes.

Clase	Abdomen	Aorta	4 cámaras	3 vasos tráquea
# Correcto	28	3	26	21
# Correcto secundario	1	2	6	0
# Total	29	8	33	21

 Tabla 3.
 Resultados excluyendo una imagen

Para el segundo análisis, excluyendo un vídeo completo, se ven los resultados totales (combinando los de todos los vídeos) en la Tabla 4, con exactitud total de 0.419, a pesar de variar mucho dependiendo de la clase:

Clase	Abdomen	Aorta	4 cámaras	3 vasos tráquea
# Correcto	283	44	233	126
# Correcto secundario	70	70	115	129
# Total	389	432	409	406

Tabla 4. Resultados totales excluyendo un vídeo completo

7. Discusión y conclusiones

En este trabajo presentamos la evaluación de algoritmos basados en redes convolucionales para la clasificación de cortes de ultrasonido fetal. En una primera fase se determinó como mejor clasificador una red ResNet18. Se analizó sobre conjuntos de entrenamiento, validación e inferencia obtenidos mediante porcentajes dentro de cada una de las clases de imagen, sin tener en cuenta el vídeo de procedencia. Una vez elegida la arquitectura, se reestructuraron los conjuntos, omitiéndose las etiquetadas como 'Otros' y eligiéndose nuevos conjuntos agrupando vídeos completos. Tras esto se llevaron a cabo dos análisis por validación cruzada, el primero excluyendo una imagen en cada paso y el segundo excluyendo un vídeo completo.

Los resultados del primero de estos dos análisis muestran que la clase "Abdomen" se predice muy bien, lo que, junto con el hecho de que sea la mejor clasificada en el segundo análisis, puede indicar que es la más reconocible. La clase "3 vasos tráquea" también obtiene muy buenos resultados en el primer análisis, así como "4 cámaras", que si no es clasificada correctamente como primera opción lo es como segunda. Se muestra que al no evaluarse sobre pacientes externos el clasificador obtiene resultados útiles, ya que incluso las clasificaciones como segunda opción podrían ser una ayuda durante la adquisición de imágenes.

En el segundo análisis se observa la dificultad de la red para reconocer imágenes provenientes de nuevos pacientes, ya que en ocasiones presentan grandes diferencias con las conocidas por la red. Esto puede deberse a la amplia variabilidad de imágenes en cada clase, apareciendo particularidades que dependen de cada vídeo, debido a las condiciones de adquisición y la anatomía de los pacientes. Otro factor a tener en cuenta es la dificultad en cuanto al etiquetado de ciertos pacientes debido a la calidad de las imágenes. Para mejorar la puntuación sería necesario proporcionar más ejemplos de pacientes diferentes en el entrenamiento, de forma que el algoritmo pueda estar preparado para un mayor abanico de opciones. Creemos que los resultados indican que aumentando los datos la red conseguirá una clasificación más robusta.

En ambos análisis de validación cruzada "Aorta" es la clase peor detectada debido a que su menor número de imágenes, a pesar del aumento de datos, implica menor información sobre ella. Una prioridad debe ser por tanto incluir más imágenes de esta clase en el entrenamiento.

De cara al futuro se pretende obtener un mayor número de imágenes etiquetadas para entrenar la red de forma que generalice mejor sus resultados. Se considerará la aplicación de mayores transformaciones en el aumento de datos para intentar aproximar mejor la variabilidad entre vídeos. Por otro lado, dado que el tiempo de inferencia es casi instantáneo, se planteará la aplicación de un algoritmo similar para analizar vídeos en tiempo real que pueda servir como soporte a los ginecólogos.

Trabajo subvencionado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, Instituto de Salud Carlos III, proyecto PI18/01625, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), "Una manera de hacer Europa".

Referencias

[1] L. Wu, J. Z. Cheng, S. Li, B. Lei, T. Wang, and D. Ni, "FUIQA: Fetal ultrasound image quality assessment with deep convolutional networks," *IEEE Trans. Cybern.*, vol. 47, no. 5, pp. 1336–1349, May 2017.

[2] C. F. Baumgartner *et al.*, "SonoNet: Real-Time Detection and Localisation of Fetal Standard Scan Planes in Freehand Ultrasound," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 36, no. 11, pp. 2204–2215, 2017.

[3] Y. Zhu, Y. Zhou, Q. Ye, Q. Qiu, and J. Jiao, "Soft Proposal Networks for Weakly Supervised Object Localization," in *Proceedings of the IEEE International Conference on Computer Vision*, 2017, vol. 2017-Octob, pp. 1859–1868.

[4] N. Toussaint et al., "Weakly supervised localisation for fetal ultrasound images," in Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics), 2018, vol. 11045 LNCS, pp. 192–200.

[5] "Precision-Recall — scikit-learn 0.21.2 documentation."[Online]. Available: https://scikit-

learn.org/stable/auto_examples/model_selection/plot_precision_ recall.html. [Accessed: 04-Jun-2019].

[6] A. Krizhevsky and G. E. Hinton, "ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks," *Neural Inf. Process. Syst.*, pp. 1–9, 2012.

[7] K. Simonyan and A. Zisserman, "Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition," in *ICLR*, 2015.

[8] K. He, X. Zhang, S. Ren, and J. Sun, "Deep residual learning for image recognition," in *Proceedings of the IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2016, vol. 2016-Decem, pp. 770–778.

Segmentación de hueso, músculo y grasa en volúmenes TAC mediante relajación convexa

J. A. Pérez-Carrasco, C. Serrano, B. Acha

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

Resumen

La segmentación de tejido óseo, graso y muscular en volúmenes TAC es de interés especial para cirujanos y radiólogos en el diagnóstico de algunas enfermedades y en planificación quirúrgica. Estos tejidos son muy difíciles de delinear debido a la presencia de múltiples y diferentes estructuras y a la similitud de valores de Hounsfield con los órganos circundantes.

En este artículo se muestra un algoritmo automático para implementar la segmentación de hueso, músculo y tejido adiposo. La segmentación se lleva a cabo minimizando una función de energía mediante relajación convexa. En trabajos previos con esta técnica solo se habían considerado dos etiquetas (hueso y músculo) y los métodos tenían grandes problemas para segmentar con precisión el músculo esquelético debido a la presencia de órganos internos con valores Hounsfield muy similares a los del tejido muscular. En este trabajo se ha incluído el conocimiento previo sobre la distribución del músculo esquelético en los volúmenes de TAC abdominal, torácico y pelvis mediante la inclusión de una transformación de distancia binaria en el cálculo de los términos de coste. Para evaluar el rendimiento del algoritmo se ha utilizado una base de datos pública y se han obtenido diferentes métricas, como DICE, Jaccard, sensibilidad y exactitud para evaluar el rendimiento del algoritmo. La técnica se ha comparado con una implementación anterior de dos etiquetas, con técnicas de level-sets y con umbralización. El algoritmo propuesto superó a los otros métodos en todas las métricas consideradas.

1. Motivación

En este artículo se describe un algoritmo automático que implementa la segmentación de hueso, grasa y músculo esquelético. La segmentación de dichos tejidos es de especial interés para cirujanos y radiólogos en multitud de aplicaciones diferentes: planificación quirúrgica, localización de fracturas, diagnóstico de algunas enfermedades que alteran la densidad ósea (reuma, artritis, osteoporosis), análisis de la composición corporal, etc. La segmentación de estos tejidos es muy costosa computacionalmente debido a la gran cantidad de datos (especialmente en volúmenes TAC) y a la similitud en términos de valores de Hounsfield de estas estructuras entre ellas mismas y con otros órganos circundantes. Muchos autores han propuesto diferentes técnicas para segmentar tales estructuras [1-9]. Por ejemplo, las técnicas de deep learning [1] han demostrado ser muy efectivas en la segmentación de estos tejidos. Sin embargo, en estas técnicas, el número de imágenes requeridas para el entrenamiento es muy grande, y se requiere la segmentación manual, que debe de ser muy precisa, por parte de expertos para obtener los volúmenes etiquetados correspondientes. Esta segmentación manual requiere un trabajo muy duro en términos de tiempo y computación y, por lo general, esas bases de datos no se hacen públicas y no pueden utilizarse por tanto para fines de comparación con otras técnicas.

En la mayoría de los trabajos recientes, la segmentación del tejido muscular, óseo y graso se implementa en alguna región particular o estructura muscular u ósea [1,4,10,11]. Sin embargo, los cirujanos y los radiólogos necesitan métodos automáticos y que no dependan de regiones particulares o estructuras específicas para obtener las estructuras segmentadas. El hecho de no disponer de algoritmos automáticos o generales es un problema, ya que conlleva la necesidad de tener que cambiar entre diferentes programas o algoritmos para realizar la segmentación de estructuras diferentes. Para intentar evitar todos estos problemas, en este artículo se describe un método general basado en la minimización de una función de energía a través de la relajación convexa [3,12]. En comparación con un trabajo anterior de segmentación en dos etiquetas [3], el algoritmo propuesto en este trabajo proporciona una segmentación con tres etiquetas que son: hueso, músculo y tejido adiposo. Además, en este trabajo se ha incorporado el conocimiento previo sobre la distribución del músculo esquelético en los volúmenes TAC abdominal, torácico y pelvis mediante la inclusión de una transformación de distancia binaria en el cálculo de las funciones de coste.

2. Método

El algoritmo propuesto consta de cuatro pasos. En el primero de ellos, se lleva a cabo una etapa de preprocesamiento para delimitar la piel de todos los volúmenes TAC. Muy pocos trabajos abordan la segmentación de la piel en volúmenes TAC [3,4]. Para implementar esta tarea se han seguido los pasos descritos en el trabajo de Pérez-Carrasco y col. [3], donde se aplica un algoritmo de crecimiento de regiones para la delimitación de la piel.

En segundo lugar, se realiza una operación de mejora de contraste. En los volúmenes TAC, los valores Hounsfield suelen estar entre -2000 y 3000, que es un rango muy amplio. Por lo tanto, para realzar la visualización y facilitar el procesamiento y segmentación de los tres tejidos de interés, se han seleccionado tres ventanas Hounsfield diferentes para cada estructura: huesos, músculos y grasa. Cada volumen TAC se umbralizó utilizando las tres ventanas Hounsfield diferentes y el resultado se dividió por el umbral superior dentro de cada ventana correspondiente de modo que el valor máximo fuera 1. Como resultado de estas operaciones se obtuvieron 3 volúmenes umbralizados y escalados que han sido etiquedados como TSV_b (hueso), TSV_m (músculo) y TSV_f (grasa). Las tres ventanas utilizadas fueron obtenidas utilizando el conjunto de datos de entrenamiento, de modo que para cada tejido, se seleccionó el rango Hounsfield más apropiado. En el tercer paso, se construye una función de energía que será minimizada más tarde mediante relajación convexa. En esta energía participan cuatro funciones de coste que han sido calculadas del siguiente modo:

$$CIT_{1} = a HDV_{m} + (1-a)(|TSV_{m} - \overline{TSV_{m}}|)$$

$$CIT_{2} = b HDV_{b} + (1-b)(|TSV_{b} - \overline{TSV_{b}}|)$$

$$CIT_{3} = (|TSV_{f} - \overline{TSV_{f}}|)$$

$$CIT_{4} = 1 - c(CIT_{1} + CIT_{2} + CIT_{3})$$
(1)

En la ecuación (1), $\overline{\text{TSV}}_m$, $\overline{\text{TSV}}_b$ y $\overline{\text{TSV}}_f$ son los valores medios de $TSV_{b,entrenamineto}$, $TSV_{m,entrenamineto}$ TSV_{f.entrenamino} (volúmenes umbralizados y escalados dentro del conjunto de datos de entrenamiento), HDV_m y HDV_b son volúmenes de distancia de histograma para músculo y hueso, donde cada vóxel x mide la distancia (Earth Mover's Distance) entre dos histogramas: el histograma local en cada vóxel x del volumen TSI correspondiente (TSV_b o TSV_m) y dos modelos de histograma de referencia correspondientes a tejido óseo y al muscular. Hay que tener en cuenta que los histogramas locales calculados proporcionan información sobre la distribución de los valores dentro de los tejidos (información de textura). Los parámetros a, b y c en la Ec. (1) se obtuvieron mediante simulated annealing siguiendo los pasos del método en [3].



Figura 1. Cuatro funciones de coste correspondientes a un corte en un volumen TAC. a) Término de coste correspondiente al tejido muscular, b) término correspondiente al tejido óseo, c) término correspondiente al tejido adiposo, y finalmente d) corresponde al resto de estructuras en el corte

En la Ec. (1), CIT_1 debe tomar valores bajos en los vóxeles correspondientes al músculo, CIT_2 debe tomar valores bajos en los vóxeles correspondientes al hueso, CIT_3 debe tomar valores bajos en los vóxeles correspondientes a la grasa y finalmente CIT_4 debe tomar valores bajos en el resto de los vóxeles. La figura 1 muestra los cuatro términos de coste correspondientes a un corte en un volumen TAC.

esqueléticos en las tomografías músculos Los computarizadas abdominales, de tórax y pelvis se encuentran principalmente entre las costillas, dentro de la caja torácica, protegiendo órganos como los pulmones y el corazón. Por lo tanto, para tener en cuenta esta información de localización en los volúmenes TAC correspondientes a estas regiones, se ha incorporado un término de penalización, de modo que aquellos vóxeles en el interior de la caja torácica sean considerados como músculo con menor probabilidad. Esta función de penalización se ha calculado utilizando la transformación de distancia binaria [13], que proporciona una métrica de la separación entre puntos en una imagen. Posteriormente, esta distancia es suavizada utilizando una ley potencial con gamma = 0.15. Por lo tanto, el término de coste en la Ec. (1) ha sido modificado y recalculado como:

$$\operatorname{CIT}_{3,\mathrm{NUEVO}} = \operatorname{CIT}_{3} \cdot tdb_{gamma} \tag{2}$$

donde tdb_{gamma} es la transformación de distancia binaria a la que se ha aplicado una ley gamma.

Finalmente, en el cuarto y último paso se construye una función de energía multi-etiqueta utilizando los cuatro términos de coste descritos anteriormente en Ec. (1) del siguiente modo:

$$\min_{u_i(x)\in[0,1]} \sum_{i=1}^{5} \int_{\Omega} (u_{i-1}(x) - u_i(x)) CIT_i(x) dx + \int_{\Omega} C(x) |\nabla u_i(x)| dx
s.t. \quad 1 = u_0(x) \ge u_1(x) \ge u_2(x) \ge u_3(x) \ge u_4(x) = 0$$
(3)

En la ecuación (3), *x* representa la posición del vóxel, *i* denota la etiqueta y $u_i(x) \in [0,1]$ las funciones de etiqueta. $CIT_i(x)$ son los términos de coste asociados con la asignación de la etiqueta *i* al vóxel *x* y el término C(x) es una función de penalización que favorece que las fronteras entre las regiones se ubiquen en vóxeles con alta intensidad de borde. La función de energía en la Ec. (3) se minimiza utilizando la técnica de relajación convexa continua de J. Yuan y col. [12].

Una vez que se obtienen las tres segmentaciones: hueso, músculo y grasa, las etiquetas del músculo esquelético y las etiquetas óseas se pueden usar como pared binaria para separar los dos componentes principales en la grasa: *SAT* (tejido adiposo subcutáneo) y *VAT* (tejido adiposo visceral). Estos componentes se pueden usar, por ejemplo, para calcular varios índices de salud con el fin de evaluar la hipertensión o la obesidad [14].

	U	mbralizació	ón	Level	Sets híbrio	do [9]	Trabajo	previo [3]	Algo	oritmo proj	ouesto
Parámetro	Hueso	Músculo	Grasa	Hueso	Músculo	Grasa	Hueso	Músculo	Hueso	Músculo	Grasa
Disc	0.73	0.41	0.78	0.74	0.49	0.68	0.75	0.60	0.78	0.74	0.84
Dice	±0.14	±0.13	±0.05	±0.10	±0.16	± 0.06	±0.15	±0.18	±0.13	±0.10	±0.15
Income	0.59	0.27	0.64	0.60	0.34	0.52	0.62	0.45	0.65	0.60	0.75
Jaccaru	±0.18	±0.13	± 0.07	±0.13	±0.16	± 0.07	±0.19	±0.20	±0.17	±0.13	±0.22
Consibilidad	0.67	0.99	0.99	0.86	0.69	0.99	0.75	0.86	0.85	0.83	0.96
Sensibiliuau	±0.18	±0.00	±0.07	±0.09	±0.09	± 0.00	±0.15	±0.05	±0.12	±0.08	± 0.05
E	0.83	0.27	0.64	0.66	0.41	0.52	0.77	0.50	0.74	0.69	0.78
Exactitud	±0.15	±0.13	± 0.07	±0.13	±0.21	± 0.07	±0.19	±0.23	±0.19	±0.16	±0.21
Tiempo cómputacional(s)		0.038±0.01		14.83±2.65		50.77±8.59		51.21±9.27			

Tabla 1. Resultados experimentales y comparación con otras técnicas

3. Resultados Experimentales

Para evaluar la herramienta y obtener métricas con las que validar y comparar el algoritmo se ha utilizado una base de datos pública de volúmenes TAC (base de datos *USevillabonemuscle* [3]). De los 27 volúmenes disponibles en la base de datos solo se han considerado 9 de ellos. Esto es debido a que estos volúmenes corresponden a pelvis, abdomen y tórax, y por tanto presentan una mayor complejidad en cuanto a segmentación en comparación con el resto de volúmenes, que corresponden principalmente a extremidades y en las que el método propuesto funcionó tan bien como el método anterior [3] en la segmentación del tejido óseo y muscular.

El dispositivo de adquisición para los volúmenes fue un TAC helicoidal de Philips Medical Systems, con un tamaño de corte de 512×512 píxeles y 0,781 mm / píxel y un grosor de corte de 5 mm. La base de datos proporciona la verdad de referencia (*ground truth*) de segmentación para hueso y músculo esquelético. En nuestro trabajo, un experto ha proporcionado la verdad de referencia adicional para el tejido adiposo (en particular el tejido adiposo subcutáneo, *SAT*).

Para evaluar el rendimiento del algoritmo, se realizó una validación cruzada triple. En cada iteración, 3 volúmenes TAC fueron utilizados para entrenamiento y los 6 restantes como conjunto de prueba. La técnica ha sido comparada con la técnica de dos etiquetas en [3], la técnica de level sets en [9] y una técnica de umbralización que utiliza tres ventanas Hounsfield diferentes para cada uno de los tres tipos de tejidos (hueso, músculo y grasa). La técnica de umbralización requirió el menor tiempo de cálculo. Sin embargo, los resultados obtenidos mediante el uso de umbrales fueron bajos debido a la superposición en los valores de Hounsfield entre los diferentes tejidos. Esta similitud entre los valores es posible debido a muchos factores: género, edad, presencia de enfermedades, región corporal, etc. La técnica de level sets [9] mostró problemas de convergencia debido a la gran cantidad de estructuras presentes en los volúmenes considerados. La entrada al algoritmo fueron los volúmenes TSI_b , TSI_m y TSI_f , descritos anteriormente, y los parámetros óptimos requeridos por el algoritmo se calcularon utilizando el conjunto de entrenamiento en cada iteración de la validación cruzada.

La figura 2 muestra los resultados de segmentación para un corte de un volumen TAC cuando se usan los cuatro métodos diferentes.



Figura 2. Resultado de la segmentación para un corte de un volúmen TAC cuando se usan cuatro métodos diferentes: a) método de dos etiquetas descrito en [3]. b) umbralización, c) método de level-sets híbrido, y d) algoritmo propuesto. El tejido graso se representa en color azul, el tejido muscular en color amarillo y, finalmente, el hueso se representa en color rosa. Los contornos rojos corresponden a la groundtruth de músculo, los contornos azules oscuros corresponden a la grasa (SAT) y finalmente, los contornos verdes corresponden al hueso.

La Tabla I muestra el valor de diferentes métricas (Dice, Jaccard, Sensibilidad y exactitud) y el tiempo de cálculo (en segundos por corte) obtenidos utilizando las diferentes técnicas. Las métricas utilizadas han sido calculadas mediante las siguientes expresiones:

Sensibilid ad =
$$\frac{VP}{VP + FN}$$
 (4)

$$Dice = \frac{2VP}{2VP + FP + FN}$$
(5)

$$Jaccard = \frac{VP}{VP + FP + FN}$$
(6)

Exactitud =
$$\frac{VP + VN}{VP + VN + FP + FN}$$
 (7)

En estas expresiones verdaderos positivos (VP) son aquéllos vóxeles etiquetados como hueso, músculo o grasa por el algoritmo y también según la verdad de referencia. Falsos positivos (FP) corresponden a los vóxeles etiquetados por el algoritmo como uno de los tres tejidos sin serlo según la verdad de referencia. Verdaderos negativos (VN) corresponden a los vóxeles que no son etiquetados por el algoritmo como uno de los tres tejidos y así lo determina también la verdad de referencia. Finalmente, falsos negativos (FN) son aquéllos vóxeles que según la verdad de referencia corresponden a uno de los tres tejidos pero el algoritmo considera un tejido diferente al establecido por la verdad de referencia.

4. Conclusiones

En este artículo se ha presentado un algoritmo de segmentación con múltiples etiquetas para implementar la delimitación de estructuras de grasa, músculo y hueso mediante la minimización de una función de energía siguiendo un método de optimización convexa. La función de energía propuesta incluye la distancia a los modelos de histograma (información de textura) combinada con información de nivel de gris. En un trabajo anterior [3], solo se habían considerado dos etiquetas (músculo y hueso) y el rendimiento del algoritmo fue deficiente debido a la presencia de estructuras con valores Hounsfield cercanos a los presentes en las estructuras de interés. En este trabajo, se agrega un tercer tejido (grasa) y se mejora la segmentación de las estructuras musculares al considerarse el conocimiento previo sobre su distribución en los volúmenes TAC abdominal, torácico v pelvis. Se ha modificado el término de coste correspondiente a músculo utilizando una transformación de distancia binaria para penalizar los vóxeles correspondientes a los órganos en el interior de la caja torácica con valores Hounsfield cercanos a los del tejido muscular.

Los resultados obtenidos en este trabajo superan a los del trabajo anterior [3] y a los resultados obtenidos utilizando otras técnicas, como umbralización y level sets. La comparación con otras técnicas basadas en deep learning no se ha llevado a cabo debido a la falta de disponibilidad de bases de datos públicas grandes con las anotaciones correspondientes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias al proyecto DPI2016-81103-R.

Referencias

- Weston AD, Korfiatis, P, et al. Automated Abdominal Segmentation of CT Scans for Body Composition Analysis Using Deep Learning. *Radiology*, vol 290, sup 3, 2019, pp 669-679 (ISSN: 1527-1315).
- [2] Pérez Carrasco JA, Acha Piñero B, Serrano Gotarredona C. Segmentation of bone structures in 3D CT images based on continuous max-flow optimization. *Proceedings of SPIE. Medical Imaging: Image Processing*, Orlando, 2015, pp 94133Y-1-6 (ISBN: 978-1628415032).
- [3] Pérez-Carrasco JA, Acha B, Suárez-Mejías C, López-Guerra JL, Serrano C. Joint segmentation of bones and muscles using an intensity and histogram-based energy minimization approach. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol 156, 2018, pp 85-95 (ISSN: 0169-2607).
- [4] Banik S, Rangayyan RM, Boag GS. Automatic Segmentation of the Ribs, the Vertebral Column, and the Spinal Canal in Pediatric Computed Tomographic Images. *Digital Imaging*, vol 23, sup 3, 2010, pp 301–322 (ISSN: 1618-727X).
- [5] Kim YJ, y col. Computerized Automated Quantification of Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue From Computed Tomography Scans: Development and Validation Study. *JMIR medical informatics*, vol 4, sup 1, 2016 (ISSN: 2291-9694).
- [6] Arabi H, Zaidi H. Comparison of atlas-based techniques for whole-body bone segmentation. *Medical Image Analysis*, vol 36, 2017, pp 98-112 (ISSN: 1361-8415).
- [7] Kullberg J, Hedström A, Brandberg J, y col. Automated analysis of liver fat, muscle and adipose tissue distribution from CT suitable for large-scale studies. *Sci Rep*, vol 7, sup 1, 2017 (ISSN: 2045-2322).
- [8] Popuri K, y col. Body composition assessment in axial CT images using FEM-based automatic segmentation of skeletal muscle. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol 35, sup 2, 2016, pp 512–520 (ISSN: 0278-0062).
- [9] Zhang Y, y col. Medical Image Segmentation Using New Hybrid Level-Set Method. Proceedings of IEEE International Conference on Biomedical Visualization, (MEDi08VIS), 2008, pp 71-76 (ISBN: 0-7695-2603-9).
- [10] Rangayyan RM, Vu RH, Boag GS. Automatic Delineation of the Diaphragm in Computed Tomographic Images. *Journal of Digital Imaging*, vol 21, sup 1, 2008, pp 134–147 (ISSN: 1618-727X).
- [11] De-Leener B, Kadoury S, Cohen-Adad J. Robust, accurate and fast automatic segmentation of the spinal cord. *NeuroImage*. vol 98, 2014, pp 528-536 (ISSN: 1053-8119).
- [12] Yuan J, Bae E, Tai XC. A study on continuous max-flow and min-cut approaches. *Proc.of the IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2010, pp 2217–2224 (ISBN: 978-1-4244-6985-7).
- [13] Rosenfeld A, Pfaltz J. Distance Functions in Digital Pictures. *Pattern Recognition*, vol 1, 1968, pp 33-61 (ISSN: 0031-3203).
- [14] Peltz G, Aguirre MT, Sanderson M, Fadden MK. The role of fat mass index in determining obesity. *American journal of human biology: the official journal of the Human Biology Council*, vol 22, sup 5, 2010, pp 639–647 (ISSN: 1520-6300).

Texture analysis of ¹⁸F-florbetapir PET brain images for the diagnosis of Alzheimer's disease

E. Milara¹, A.P. Seiffert¹, A. Gómez-Grande², A. Villarejo-Galende³, H. Bueno^{4,5}, E.J. Gómez^{1,6}, P. Sánchez-González^{1,6}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España;

eva.milara.hernando@alumnos.upm.es, {aseiffert, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; adolfogomez@gmail.com

³ Servicio de Neurología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; avgalende@yahoo.es

⁴ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, España; h.bueno@cnic.es

⁵ Instituto de Investigación i+12, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

⁶Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Abstract

Alzheimer's disease is characterised by pathological plaques outside the neurons formed by amyloid-beta (A β) that start occurring in the preclinical phase of the disease. PET imaging based on $A\beta$ -binding radiotracers is used in the diagnosis of AD. These include ¹¹C-Pittsburgh compound B and fluorinelabelled tracers like florbetapir (FBP). The images are visually analysed and classified into amyloid negative (A-) and amyloid positive (A+). This classification is based on the uptake of the radiotracer in cortical brain regions and the difference to the adjacent white matter. Quantitative feature extraction of amyloid PET images is proposed to help in the classification of difficult cases. First, the images are segmented into cortical brain regions. Then, Standard Uptake Value ratios (SUVR) and textural features based on the grey level co-occurrence matrix (GLCM) are extracted from the images. An SVM model is computed to classify amyloid PET images based on the extracted features. SUVRs, textural features and a combination of both are evaluated. The results show that feature vectors composed of 9 textural features offer the highest prediction accuracy, sensitivity and specificity (0.97, 0.94 and 1.00, respectively). Therefore, textural features are shown to be potential image features to correctly classify PET-amyloid images into A- and A+.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterised by an advanced stage of dementia and usually occurs at an advanced age of the patient (> 65 years) [1,2]. Nowadays, 50% to 75% of the cases of dementia are associated with AD [3]. It is believed that the number of cases duplicates until the year 2050. Therefore, AD presents an increasing socio-economic, as well as a socio-sanitarian problem [4].

In 2011, the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association defined three phases of AD [4]:

 Preclinical phase: the phase is asymptomatic but changes in the brain can already be detected by medical imaging.

- Mild cognitive impairment (MCI) due to AD: the phase is characterised by the first symptoms of cognitive problems in the patient.
- Dementia due to AD: the cognitive decline affects the day-to-day life and ends in the death of the patient.

The changes in the brain of the patient that start in the preclinical phase are related to neuronal damage. The presence of extracellular amyloid-beta (A β) plaques is one of the phenomenon that characterises this phase [4]. These pathological and toxic plaques are located outside the neurons and result in neuronal dysfunction and could lead to their death [5]. The pathological A β plaques reach their maximum prior to the third phase that corresponds to dementia.

PET imaging can be used to visualize the A β burden in early phases of the cognitive decline. Radiotracers that bind to A β plaques are employed. Examples of A β binding radiotracers are ¹¹C-Pittsburgh compound B and fluorine-labelled tracers (¹⁸F-florbetapir (FBP), ¹⁸Fflorbetaben and ¹⁸F-flutemetamol) that are used in routine clinical practice due to their increased half-life compared to ¹¹C-labelled tracers [1].

The visual analysis of amyloid PET images is performed by physicians specialised in nuclear medicine who classify the cases in amyloid negative (A-) and amyloid positive (A+). This differentiation is based on the uptake of the A β -binding radiotracer in the grey matter of the brain compared to the white matter. In an A- case, the uptake is higher in the white matter than in the grey matter. On the contrary, to classify a case as A+, two or more cortical brain regions need to present equal or higher uptake in the grey matter than the adjacent white matter [6]. Therefore, the difference, or absence of differences, between the intensities in grey and white matter in amyloid PET images determines whether they are A- or A+. While the visual analysis of amyloid PET images presents a high accuracy, difficult cases might arise where quantitative image processing methods can offer a solution. The goal of this work is to evaluate different quantitative image features of amyloid PET images for the classification into A- and A+. The radiotracer uptake in cortical brain regions is quantified and textural features are extracted. A predictive model is computed to evaluate the effectiveness of the PET-amyloid image features.

2. Material and Methods

2.1. Materials

The PET amyloid images used in this work are provided by the department of nuclear medicine of the *Hospital Universitario 12 de Octubre*, Madrid, Spain. The study group is formed by 30 cases of patients suspected of having MCI or a neurodegenerative disease. They are registered and treated at said hospital. The mean age (\pm standard deviation) of the patients is 66.46 \pm 8.76 years with a gender distribution of 19 men and 11 women. The images are classified by the physicians based on visual analysis into A- or A+.

All images were acquired with a Siemens Biograph 6 True Point PET/CT scanner (Siemens AG, Munich, Germany) at the hospital. The radiotracer used for the acquisition of the amyloid PET images is FBP. A dose of 359.53 ± 47.48 MBq was intravenously injected and the image was acquired 44 - 92 minutes afterwards. A lowdose CT scan was used for attenuation correction.

The image processing, feature extraction and statistical analysis is performed in MATLAB (The MathWorkds, Inc., Natick, Massachussetts, US). Statistical Parametric Mapping 12 (SPM12) (Wellcome Centre for Human Neuroimaging, University College London, London, United Kingdom) is used to preprocess all images before the feature extraction [7]. A textural analysis toolbox for MATLAB called *Radiomics* by M. Vallières is used¹ [8].

Moreover, two brain atlases are used that define the spatial localisation of anatomical brain regions in Montreal Neurological Institute (MNI) space. The first atlas originates from the "MICCAI 2012 Grand Challenge and Workshop on Multi-atlas Labeling" and is provided by Neuromorphometrics, Inc. under academic licence. On the other hand, the brain segmentation from the Automatic Anatomical Labelling (AAL2) atlas is used in this work [9, 10]. The main difference between both atlases is the thickness of the defined cortical regions in the axial plane. They are applied in different stages of the feature extraction. First, the extraction of cortical mean SUV values requires that no white matter is included. Therefore, the binary masks obtained from the Neuromorphometrics, Inc. atlas are used for the segmentation due to their reduced cortical thickness. However, the goal of the textural analysis is to compare the difference between grey and white matter and thicker masks of cortical regions are needed, which are provided by the AAL2 atlas. In both cases, only the regions that correspond to the frontal,

temporal, parietal and occipital lobes, and the anterior and posterior cingulate cortices are used. In the case of the Neuromorphometrics, Inc. atlas, the cerebellum is also extracted.

2.2. Methods

The methodology is divided into three steps: (1) preprocessing, (2) feature extraction, and (3) statistical analysis.

Preprocessing. The initial part of the methodology is the preprocessing of the images. The images provided by the hospital's department need to be oriented and transformed into a standard space to reduce anatomical differences between patients. SPM12 is used to manually orient the images and for the spatial normalisation. First, the origin of the image is moved to the anterior commissure and aligned to the posterior commissure. The spatial normalisation transforms the image into MNI space with matrix size $91 \times 109 \times 91$ and a voxel size of $2 \times 2 \times 2$ mm³.

Feature extraction. The feature extraction is performed based on the segmentation of the image into cortical brain regions. The atlases mentioned in section 2.1 define these regions of interest (ROI) depending on the feature. Then, two types of features are extracted from the ROIs: (1) radiotracer uptake and (2) textural features.

The Standard Uptake Value (SUV) is used to measure the radiotracer uptake. The normalised images are transformed into SUV maps based on the equation in [11]. The average SUV is extracted from each region defined by the Neuromorphometrics, Inc. atlas and normalised to the mean SUV of the cerebellum, resulting in SUV ratios (SUVR). Thus, a feature vector formed by the SUVRs defines an individual case.

On the other hand, textural features are statistical parameters that describe the spatial distribution of the intensities in an image. They extracted after an intensity quantification of the spatially normalised PET-FBP images. Then, the AAL2 atlas is used to segment the ROIs. For each ROI, 9 textural features are extracted based on the Grey Level Co-occurrence Matrix (GLCM). The GLCM represents the spatial association between pixels or voxels of different intensities. It is computed by quantifying the number of times every combination of intensities between a reference pixel or voxel and another one at a specific direction and distance occurs. Then, the textural features are obtained. In this work, the autocorrelation, contrast, correlation, dissimilarity, energy, entropy, homogeneity, sum average, and variance are calculated. The Radiomics toolbox is used to obtain the GLCM of each region and to calculate the textural features. In the end, a feature vector of 9 textural features describes each cortical region of the AAL2 atlas.

Statistical analysis. A support vector machine (SVM) is computed to evaluate the diagnostic value of SUVR and textural features to classify PET-FBP images into A- and A+. SVM is a supervised learning algorithm that uses a set of pre-classified observations, each described by a feature vector, to train the predictive model. K-fold cross-validation is used to train and validate the predictive model. The dataset is divided into k subsets where the

¹ <u>https://github.com/mvallieres/radiomics</u> Last access: September 2019

model is trained with k-1 subsets and tested on the remaining subset. Moreover, four different feature vectors are evaluated. They are composed of: (1) the SUVRs of the cortical regions, (2) the SUVRs combined with 9 textural features, (3) 9 textural features, and (4) only 6 textural features that are selected based on [12] (contrast, correlation, dissimilarity, energy, entropy and homogeneity). To evaluate the performance of the predictive model and to compare the different feature vectors, the accuracy, sensitivity and specificity are obtained.

3. **Results and Discussion**

Figure 1 and Figure 2 show examples of negative and positive PET-FBP images. They correspond to a 74-year-old male patient and a 71-year-old male patient, respectively. The difference between A- and A+ images can be observed. In Figure 1, white matter can be identified and differentiated from grey matter as it corresponds to the regions of higher image intensity. In this case, regions of darker grey tones. On the other hand, such differentiation is difficult to observe in Figure 2. The pixels corresponding to white and grey matter present similar intensities and the regions are more homogeneous.



Figure 1: Example of an amyloid negative PET-FBP image corresponding to a 74-year-old male patient.



Figure 2: Example of an amyloid positive PET-FBP image corresponding to a 71-year-old male patient.

SUVRs are extracted for cortical regions based on the Neuromorphometrics, Inc. atlas and form a feature vector of 78 SUVRs, one for each region. On the other hand, intensity quantification is performed on the spatially normalised images into 128 grey levels based on [12]. Then, 9 textural features are computed for each of the 90 cortical ROIs of the AAL2 atlas.

A total of four predictive models are computed for four different datasets to evaluate the performance of the distinct combinations of features. A linear kernel is used in the creation of the SVM. 7-fold cross validation is applied, and the results are shown in *Table 1*.

Features	Accuracy	Sensitivity	Specificity
SUVR	0.85	0.71	0.95
SUVR + 9 Textural Features	0.94	0.93	0.95
9 Textural Features	0.97	0.94	1.00
6 Textural Features	0.74	0.79	0.70

Table 1: Classification results.

The overall best performance can be observed when using 9 textural features to define the feature vectors that describe the individual cases. Both the accuracy and sensitivity are very high with 0.97 and 0.94, respectively. Moreover, every A- case of the dataset is correctly classified, resulting in a specificity of 1.00. Comparable results are obtained with a combination of SUVRs and the 9 textural features. The accuracy is 0.94 and the sensitivity is only 0.01 lower than in the case of using only 9 textural features (0.93). However, not every A- case is classified correctly and thus, the specificity is 0.95.

Eliminating the textural features from the feature vectors and only using SUVRs decreases the performance of the created predictive model. The accuracy and specificity are still high with 0.85 and 0.95, respectively. However, the obtained sensitivity presents the overall lowest value with only 0.71, indicating that mainly A+ cases are wrongly classified. This could be explained by overall low SUVR values extracted from the image in specific cases. They are analysed in an isolated way, not comparing them to the uptake in the white matter and therefore are potentially lower than the threshold defined by the algorithm. Moreover, the regions the SUVRs are extracted from, and the cerebellum, might be affected by grey matter atrophy and thus, altering the SUVRs. Finally, the simple fact of normalising by a reference region could introduce variability in the extracted features [12]. In routine clinical practice, SUVRs can be more intuitively interpreted as the SUV is a widely used parameter in nuclear medicine and various studies propose thresholds defined by a global SUVR to differentiate between A- and A+ cases [13, 14]. Therefore, and also based on the results presented in this work, the SUVR is a feature that should not be discarded when analysing amyloid PET images.

Lastly, the dimensionality of the feature vector is decreased by only taking into account a reduced number of textural features. Based on the study by Campbell *et al.*, the autocorrelation, sum average and variance are eliminated [12]. It can be observed that a feature vector of 6 textural features yields the lowest classification results, with an accuracy of 0.74. While the sensitivity is higher than in the case of only using SUVRs (0.79), the specificity is only 0.70. This indicates that 6 textural features tend to not correctly classify A- cases where the contrast between the intensity of grey and white matter is greater. Moreover, it shows that the three eliminated features add important information to the predictive model when classifying PET-amyloid images into A- and A+.

The quantitative analysis of PET-amyloid images based on textural features is studied in two previous works by Ben Bouallègue *et al.* [15] and Campbell *et al.* [12]. However, the authors of those studies evaluated the effectiveness of textural features to differentiate between normal subjects or AD patients by Ben Bouallègue et al., and patients with MCI, as well as other grouping criteria, by Campbell et al. Ben Bouallègue et al. use 5 textural features computed from the GLCM (contrast, correlation, energy, entropy and homogeneity) to train a SVM and predict the conversion to AD. The obtained accuracies for each textural feature are between 0.72 and 0.81. The sensitivities are all above 0.8 with one exception (0.66). In contrast, the specificity does not reach 0.8 and the lowest value is 0.59. These values are overall lower than the results obtained in this work with 9 textural features. However, the aim of the study is different, and the results could indicate that textural analysis is more effective to differentiate A- from A+ amyloid PET images.

On the other hand, Campbell *et al.* demonstrate the usefulness of textural features to classify normal and MCI subjects compared to SUVRs. The authors use Wilcoxon statistical tests (textural features) and Student's t-tests (SUVRs) to evaluate the differences between the extracted features. They conclude that textural features are able to correctly classify normal and MCI subjects. The results are similar to the ones presented in this work. Textural features are suitable for the analysis of amyloid PET images and might be superior to an analysis by SUVR.

4. Conclusions

PET-amyloid images are visually classified in amyloid negative and positive cases depending on the uptake of A β -binding radiotracers in grey matter. Generally, the visual analysis correctly classifies the images, but borderline cases might prove difficult. Quantitative analysis of cortical brain regions is studied based on SUVR and textural features to classify PET-FBP images into A- and A+. A predictive model is created with different feature vectors. The classification results indicate that both SUVR and textural features are able to classify the images, whereas the latter show a slightly better performance.

Acknowledgments

This work is partly supported by an FPU fellowship (Beca de Formación de Profesorado Universitario) from the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (FPU16/06487).

References

- Barthel H, Seibyl J, Sabri O. The role of positron emission tomography imaging in understanding Alzheimer's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics*, vol 15, no 4, 2015, pp 395–406, (ISSN: 17448360).
- [2] Álvarez-Linera Prado J, Jiménez-Huete A. Neuroimaging in dementia. Clinical-radiological correlation. *Radiologia*, vol 61, no 1, 2019, pp 66–81, (ISSN: 15781771).
- [3] Niu H, Álvarez-Álvarez I, Guillén-Grima F, Aguinaga-Ontoso I. Prevalencia e incidencia de la enfermedad de Alzheimer en Europa: metaanálisis. *Neurologia*, vol 32, no 8, 2017, pp 523–532, (ISSN: 15781968).

- [4] Hickman RA, Faustin A, Wisniewski T. Alzheimer Disease and Its Growing Epidemic: Risk Factors, Biomarkers, and the Urgent Need for Therapeutics. *Neurologic Clinics*, vol 34, no 4. W.B. Saunders, pp 941– 953, 01-Nov-2016.
- [5] Chen GF, Xu TH, Yan Y, Zhou YR, Jiang Y, Melcher K, Xu HE. Amyloid beta: Structure, biology and structurebased therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica*, vol 38, no 9. Nature Publishing Group, pp 1205– 1235, 01-Sep-2017.
- [6] CHMP. ANEXO I FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO. https://www.ema.europa.eu/en/documents/productinformation/amyvid-epar-product-information_es.pdf (Consultada: Aug 2019).
- [7] Friston KJ, Ashburner J, Kiebel S, Nichols T, Penny WD. Statistical parametric mapping: the analysis of functional brain images. Elsevier/Academic Press, 2007, (ISBN: 9780080466507).
- [8] Vallières M, Freeman CR, Skamene SR, El Naqa I. A radiomics model from joint FDG-PET and MRI texture features for the prediction of lung metastases in soft-tissue sarcomas of the extremities. *Physics in Medicine and Biology*, vol 60, no 14, 2015, pp 5471–5496, (ISSN: 13616560).
- [9] Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, Mazoyer B, Joliot M. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage*, vol 15, no 1, 2002, pp 273–289, (ISSN: 10538119).
- [10] Rolls ET, Joliot M, Tzourio-Mazoyer N. Implementation of a new parcellation of the orbitofrontal cortex in the automated anatomical labeling atlas. *NeuroImage*, vol 122, 2015, pp 1–5, (ISSN: 10959572).
- [11] Kinahan PE, Fletcher JW. Positron emission tomographycomputed tomography standardized uptake values in clinical practice and assessing response to therapy. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, vol 31, no 6, 2010, pp 496–505, (ISSN: 0887-2171).
- [12] Campbell DL, Kang H, Shokouhi S. Application of Hharalick texture features in brain [18 F]-florbetapir positron emission tomography without reference region normalization. *Clinical Interventions in Aging*, vol 12, 2017, pp 2077–2086, (ISSN: 11781998).
- [13] Clark CM, Pontecorvo MJ, Beach TG, Bedell BJ, Coleman RE, Doraiswamy PM, Fleisher AS, Reiman EM, Sabbagh MN, Sadowsky CH, Schneider JA, Arora A, Carpenter AP, Flitter ML, Joshi AD, Krautkramer MJ, Lu M, Mintun MA, Skovronsky DM. Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid-β plaques: A prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, vol 11, no 8, 2012, pp 669–678, (ISSN: 14744422).
- [14] Thurfjell L, Lilja J, Lundqvist R, Buckley C, Smith A, Vandenberghe R, Sherwin P. Automated quantification of 18F-flutemetamol PET activity for categorizing scans as negative or positive for brain amyloid: Concordance with visual image reads. *Journal of Nuclear Medicine*, vol 55, no 10, 2014, pp 1623–1628, (ISSN: 01615505).
- [15] Ben Bouallègue F, Vauchot F, Mariano-Goulart D, Payoux P. Diagnostic and prognostic value of amyloid PET textural and shape features: comparison with classical semi-quantitative rating in 760 patients from the ADNI-2 database. *Brain Imaging and Behavior*, vol 13, no 1, 2019, pp 111–125, (ISSN: 19317565).

Desarrollo de un algoritmo de procesamiento de imágenes de ¹⁸F-fluorodesoxiglucosa PET para la clasificación de nódulos pulmonares

A. Lucero¹, A.P. Seiffert¹, P. Pilkington², A. Gómez-Grande², E.J. Gómez^{1,3}, P. Sánchez-González^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; a.lucero@alumnos.upm.es, {aseiffert, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; patrick_pilkington@yahoo.com, adolfogomez@gmail.com

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Resumen

Un nódulo pulmonar solitario (NPS) es una lesión de morfología circular con un diámetro menor que 3 cm rodeada por parénquima pulmonar. Mientras que los nódulos pulmonares benignos no siempre requieren un seguimiento y posterior extracción quirúrgica, los nódulos malignos pueden ser un precursor de tumores pulmonares. El diagnóstico y la clasificación de un NPS se realiza mediante imagen médica. Se utiliza imágenes de PET adquirida con ¹⁸F-fluorodesoxiglucosa (FDG) para evaluar el metabolismo del nódulo. Las características obtenidas de estas imágenes son un indicador fiable de la malignidad del nódulo. En este trabajo se ha diseñado e implementado un algoritmo para el procesamiento de imágenes de PET-FDG y la clasificación de nódulos pulmonares en función de la malignidad. Además, para facilitar el uso, se ha desarrollado una interfaz de usuario que permite la selección del nódulo, su segmentación, la exportación de las características y la predicción de la malignidad. La clasificación de los nódulos se basa en el volumen, y los valores máximo y medio de captación del radiotrazador en el nódulo segmentado. Los resultados obtenidos muestran una exactitud de predicción del 88,46% con una muestra de 26 pacientes. Además, se clasifican los casos con una sensibilidad y especificidad del 87,5% y 90%, respectivamente.

1. Introducción

Los nódulos pulmonares solitarios (NPS) son lesiones de menos de 3 cm rodeada por parénquima pulmonar [1]. La incidencia del NPS está en continuo aumento debido a una mejora en la detección de los mismos gracias al mayor uso de las pruebas de imagen médica y la prevalencia puede alcanzar entre el 20 y el 50 % en una población de adultos fumadores [1]. Según la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC), en España se detectan 28.645 nuevos casos de cáncer de pulmón cada año [2].

Las causas de la aparición de NPS son múltiples y pueden ser tanto malignas como benignas. La etiología de los nódulos pulmonares malignos incluye tumores, infecciones, trastornos inflamatorios y causas vasculares congénitas [3]. Así, todos los tipos histológicos de cáncer de pulmón, aunque principalmente el adenocarcinoma, pueden deberse a la aparición de un nódulo pulmonar maligno [2]. Por otro lado, los nódulos benignos corresponden a granulomas o ganglios linfáticos intrapulmonares [4]. Además, los nódulos pulmonares se pueden serparar en nódulos sólidos o subsólidos [5].

Para tener un control de los grupos que presentan una alta predisposición a padecer cáncer de pulmón y así detectar la enfermedad en una etapa temprana en la que el tratamiento sea efectivo se calcula la probabilidad pre-test de malignidad. Ésta se obtiene evaluando la historia clínica del paciente, donde se destacan los factores que pueden contribuir a la malignidad de un nódulo pulmonar [6]. Entre estos factores de riesgo destacan el tabaco y la exposición a sustancias carcinógenas o al radón. Siguiendo los criterios establecidos por la NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*), se puede determinar si las personas tienen riesgo alto, moderado o bajo [7].

Tanto la clasificación entre los nódulos sólidos y los subsólidos como la probabilidad de pre-test de malignidad determina el protocolo para establecer el grado de malignidad de los nódulos. Las normativas para el seguimiento de los nódulos sólidos comienzan distinguiendo el nódulo según la probabilidad pre-test de malignidad. Una vez determinada esta probabilidad, se dividen en función del tamaño. Así, una combinación de un alto riesgo de malignidad y un gran tamaño del nódulo resultan en un seguimiento más exhaustivo dado que los nódulos más grandes tienen una mayor probabilidad de ser malignos. El seguimiento se realiza mediante pruebas de imágenes médicas. La más recomendada en las normativas es la TAC. Finalmente, si un nódulo sólido después de realizarle un seguimiento a 2 años se observa que mantiene su tamaño, se clasifica como un nódulo benigno. Por otro lado, debido al factor de crecimiento más lento, el seguimiento de los nódulos subsólidos se realiza durante 3 años [2,8].

Aunque la imagen TAC es utilizada en el seguimiento del nódulo para el control de su tamaño, el nódulo no presenta características para una clasificación en lesiones benignas o malignas [9]. Las imágenes PET adquiridas con ¹⁸Ffluorodesoxiglucosa (FDG) se pueden utilizar para realizar esta clasificación de los nódulos [10]. A partir de ella se pueden extraer una serie de características que describen el nódulo. Entre ellas, destacan los datos referentes a la captación del trazador por el tejido del nódulo, medido mediante el *Standardized Uptake Value (SUV)*, como puede ser el valor de máxima captación (*SUVmax*) [11,12]. El análisis de las imágenes de PET-FDG en casos de nódulos pulmonares ha logrado valores de sensibilidad y especificidad por encima del 90% en estudios previos [10-12].

En este trabajo se presenta un algoritmo de clasificación de nódulos pulmonares basado en características extraídas de imágenes de PET-FDG. Se desarrolla una interfaz de usuario para la selección del nódulo en las imágenes incluyendo una posterior segmentación automática del mismo. Así se facilita el uso de la herramienta. Además, se extraen las características definidas en este trabajo. Finalmente, se aplica un algoritmo de aprendizaje automático para generar un modelo predictivo a base de una muestra de pacientes que presentan tanto nódulos benignos como malignos.

2. Material y Métodos

2.1. Materiales

Para la realización del trabajo se dispone de un banco de imágenes del servicio de medicina nuclear del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid, con estudios PET-FDG de 26 pacientes que presentan nódulos pulmonares (tanto benignos como malignos). Los datos demográficos se recogen en la *Tabla 1*.

	Ν	Sexo (h/m)	Edad (años \pm SD)
Nódulo benigno	10	7/3	$66,2 \pm 18$
Nódulo maligno	16	11/5	$71,5 \pm 14$
Total	26	18/8	$68,\!15\pm10,\!36$

 Tabla 1: Datos demográficos. SD: desviación estándar, por sus siglas en inglés

Las imágenes han sido adquiridas con un escáner PET/TAC integrado, Siemens Biograph 6 TruePoint (Siemens AG, Múnich, Alemania), en el servicio de medicina nuclear del hospital. Se administraron $357,96 \pm 101$ MBq de radiofármaco de manera intravenosa. Las imágenes han sido adquiridas 60 ± 10 minutos después de la inyección del radiotrazador FDG y se empleó la imagen TAC para la corrección de atenuación.

El trabajo se realiza íntegramente en el entorno de desarrollo de MATLAB versión R2018b (The MathWorks, Inc, Natick, Massachussetts, EE. UU.), para la extracción de características de la imagen PET-FDG y el entrenamiento del modelo predictivo. En el caso de la elaboración del modelo predictivo, se utiliza la librería 'LIBSVM' de código abierto [13]. Por último, la elaboración de las interfaces se realiza mediante la herramienta 'GUIDE' (*Graphical User Interface Development Environment*).

2.2. Métodos

La metodología del presente trabajo se divide en tres módulos. En la *Figura 1* se muestra su esquema.





Módulo 1. El primer módulo cubre la visualización de las imágenes de PET-FDG y la selección manual del nódulo pulmonar. Concretamente, las funcionalidades son:

- Cargar y visualizar la imagen PET-FDG.
- Invertir la escala de grises y ajustar la ventana de visualización.
- Seleccionar el volumen de interés (VOI, por sus siglas en inglés) que contiene el nódulo.
- Convertir la imagen a un mapa SUV basándose en la ecuación definida en [14].

Módulo 2. El segundo módulo se emplea para la visualización del VOI seleccionado en el módulo anterior y la segmentación del nódulo. Esta segmentación se realiza mediante umbralización o contornos activos. En el caso de la umbralización, el umbral se define como un porcentaje de la intensidad máxima presente en la imagen. Por otro lado, se implementa la segmentación mediante contornos activos y se utiliza el polígono que define el VOI como punto de partida para el algoritmo. Una vez segmentado el nódulo, se extraen tres características: (1) Volumen del nódulo, (2) *SUVmax* y (3) promedio de captación en el nódulo (*SUVmean*). Finalmente, se pueden exportar dichas características registradas.

Módulo 3. El tercer módulo se corresponde a la generación de un modelo predictivo mediante algoritmos de aprendizaje supervisado. Para ello, se emplean los resultados obtenidos al procesar todas las imágenes correspondientes a los casos disponibles, representando cada uno por un vector de características. La clasificación que se lleva a cabo es binaria ('benigno' o 'maligno') y el modelo predictivo generado se basa en el algoritmo de clasificación de máquinas de vectores de soporte (SVM, por sus siglas en inglés).

Finalmente, el modelo predictivo generado es validado mediante una validación cruzada de k iteraciones. El rendimiento del algoritmo se mide mediante la exactitud de predicción, la sensibilidad y la especificidad.

3. Resultados y Discusión

A continuación, se muestra la implementación de los distintos módulos. Así, la herramienta implementada consta de dos pantallas que se corresponden a los dos primeros módulos descritos anteriormente para facilitar el uso.

3.1. Módulo 1

En la *Figura 2* se puede observar la interfaz que permite visualizar la imagen PET-FDG y seleccionar el VOI que contiene el nódulo pulmonar. La interfaz dispone de 4 botones en la parte inferior izquierda que cumplen unas funciones básicas como 'Cargar Imagen', 'Invertir Colores' o 'Vista Original'. Mediante el botón 'Aceptar VOI' se guarda la selección del VOI seleccionado y se avanza al siguiente módulo.

Además, se dispone de una barra desplazadora situada en la parte inferior de la interfaz para cambiar el contraste de la imagen. Así, el nuevo máximo de intensidad se calcula como un porcentaje de la intensidad máxima en la imagen. Por otro lado, también se muestra información general sobre el paciente como el número de historia clínica, la edad, el sexo y la fecha de adquisición de la imagen.

Finalmente, para seleccionar el VOI que contiene el nódulo pulmonar se dispone de un rectángulo interactivo en cada uno de los planos. Tanto la posición como el tamaño de los mismos están conectados para mantener las características en los tres planos.



Figura 2: Interfaz correspondiente al módulo 1

3.2. Módulo 2

La interfaz que se corresponde al segundo módulo se muestra en la *Figura 3* y se abre tras seleccionar el VOI en la interfaz descrita anteriormente. En ella, se visualizan los tres planos del VOI, se puede seleccionar el nódulo pulmonar y se muestran las características extraídas.



Figura 3: Interfaz correspondiente al módulo 2

En la parte inferior izquierda se dispone de dos barras desplazadoras para ambas técnicas de segmentación. En el caso de una segmentación por umbralización se selecciona el umbral y en el caso de una segmentación mediante contornos activos se elige el número de iteraciones. Los botones de 'Umbralización' y 'Contornos Activos' generan una vista previa en el corte axial de la región segmentada indicada mediante un borde rojo. Una vez se acepta la segmentación el color del borde cambia a verde y se muestra el nódulo segmentado a la derecha de los tres planos del VOI. Con tres botones se puede cambiar el plano mostrado. Además, automáticamente se extraen las características y se muestran en la tabla. Finalmente, se pueden exportar los datos en un fichero Excel mediante el botón 'Exportar Datos' y el botón 'Predecir Malignidad' abre una ventana indicando si se trata de un nódulo es benigno o maligno.

La interfaz desarrollada se ha empleado para procesar el banco de imagen y crear una base de datos para la generación del modelo predictivo. Una vez se ha seleccionado el VOI que contiene el nódulo se basa la segmentación en una umbralización utilizando un umbral del 41%. Este valor es recomendado por la Asociación Europea de Medicina Nuclear [15]. Los resultados se muestran en la *Tabla 2*.

	SUVmax	SUVmean	Volumen (mm ³)
Nódulos benignos	$2 \pm 2,\!18$	$1,\!46\pm1,\!2$	$1675\pm1658{,}5$
Nódulos malignos	$7{,}14\pm7{,}95$	$4{,}3\pm4{,}94$	$5443,\!13\pm 5557$

 Tabla 2: Resultados de la extracción de características mostrados como promedio ± desviación estándar.

En todas las características se pueden observar diferencias entre los valores medios de los nódulos benignos y los malignos. En general, la actividad de los nódulos malignos supera aquella de los benignos y presentan un mayor tamaño. Sin embargo, la dispersión de los valores también es mayor en los nódulos malignos que en los benignos. Debido a las diferencias entre los valores máximos y medios de *SUV* también se podría deducir que los nódulos malignos presentan una distribución de captación más heterogénea. Por último, se puede observar que, generalmente, los nódulos malignos son más grandes que los benignos Todos estos valores concuerdan con las tendencias indicadas en la literatura científica, tal y como se ha expuesto anteriormente.

3.3. Módulo 3

El tercer módulo se corresponde con la generación del modelo predictivo. Se entrena el modelo con los vectores de características de los casos disponibles y que son clasificados previamente según su malignidad por los médicos del servicio. Aplicando una validación cruzada de 3 iteraciones se obtienen los valores de exactitud, sensibilidad y especificidad mostrados en la *Tabla 3*.

Exactitud	88,46%
Sensibilidad	87,5%
Especificidad	90%

Tabla 3: Resultados de la validación del modelo predictivo

La validación del modelo predictivo resulta en una exactitud de predicción del 88,46%. Revisando los casos clasificados incorrectamente, dos de ellos son falsos negativos mientras que el tercero es un falso positivo. Así, el modelo presenta una sensibilidad del 87,5% y una especificidad del 90%. Las características de los 3 casos clasificados incorrectamente durante la validación se pueden observar en la *Tabla 4*.

	SUVmax	SUVmean	Volumen (mm ³)	Resultado clasificación
Nódulo benigno	2,24	1,79	3815	Maligno
Nódulo maligno 1	5,52	3,41	1244	Benigno
Nódulo maligno 2	1,67	1,47	1908	Benigno

Tabla 4: Características de casos clasificados incorrectamente

Se puede observar que cada uno de los casos incorrectamente clasificados presenta al menos una característica que se acerca a los valores medios del grupo contrario. Así, el nódulo benigno clasificado como maligno tiene un volumen alto que difiere por 2140 mm³ del volumen medio de los casos benignos. Por el contrario, los dos nódulos malignos clasificados como benignos presentan valores de volúmenes que se acercan a la media del grupo de casos con nódulos benignos (1675 mm³). Además, el segundo de ellos presenta una actividad metabólica comparativamente baja con valores de *SUVmax* y *SUVmean* de 1,67 y 1,47, respectivamente.

Finalmente, se puede observar que los valores de exactitud, sensibilidad y especificidad están acordes con aquellos reportados en estudios previos. El meta-análisis realizado por Gould et al. [10] reporta valores medios de sensibilidad y especificidad del 93,9% y 85,8%, respectivamente. Los estudios analizados clasificaron un total de 450 nódulos pulmonares y se basaron exclusivamente en la imagen de PET-FDG. Estos valores se encuentran en torno a los valores presentados en este trabajo. Además, se puede observar una mejora de los resultados de la clasificación en comparación con aquellos estudios que únicamente se basan en el valor de SUVmax del nódulo. Así, se supera la sensibilidad del 65,7% y especificidad del 72,7% obtenidas en el estudio de Miwa et al. [12]. El estudio de Jeong et al. [11] reporta una especificidad del 77% y la sensibilidad del 88% es comparable al resultado obtenido en este trabajo. En el presente trabajo se realiza la clasificación de los nódulos no solo en función del SUVmax, sino también se añaden el volumen segmentado en la imagen de PET-FDG y el SUVmean al análisis. Como se puede observar, la adición de estas dos características mejora los resultados en comparación con estudios previos.

4. Conclusiones

La clasificación de nódulos pulmonares es una tarea importante para la detección precoz del cáncer de pulmón. Se presenta un algoritmo para la clasificación de nódulos pulmonares en benignos o malignos. Para ello se basa en tres características extraídas de imágenes de PET-FDG. Los resultados obtenidos son similares a aquellos reportados en estudios previos y muestran la capacidad de imágenes de PET-FDG para la clasificación de nódulos pulmonares.

Agradecimientos

Este trabajo está parcialmente financiado por una Beca de Formación de Profesorado Universitario del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (FPU16/06487).

References

- [1] Kikano GE, Fabien A, Schilz R. Evaluation of the Solitary Pulmonary Nodule. *American family physician*, vol 92, no 12, 2015, pp 1084–91, (ISSN: 1532-0650).
- [2] Álvarez Martínez CJ, Bastarrika Alemañ G, Disdier Vicente C, Fernández Villar A, Hernández Hernández JR, Maldonado Suárez A, Moreno Mata N, Rosell Gratacós A. Normativa sobre el manejo del nódulo pulmonar solitario. *Archivos de Bronconeumología*, vol 50, no 7, 2014, pp 285–293, (ISSN: 03002896).
- [3] Midthun DE, Swensen SJ, Jett JR. Approach to the solitary pulmonary nodule. *Mayo Clinic proceedings*, vol 68, no 4, 1993, pp 378–85, (ISSN: 0025-6196).

- [4] Beigelman-Aubry C, Hill C, Grenier PA. Management of an incidentally discovered pulmonary nodule. *European Radiology*, vol 17, no 2, 2007, pp 449–466, (ISSN: 0938-7994).
- [5] Brandman S, Ko JP. Pulmonary Nodule Detection, Characterization, and Management With Multidetector Computed Tomography. *Journal of Thoracic Imaging*, vol 26, no 2, 2011, pp 90–105, (ISSN: 0883-5993).
- [6] Clavero R. JM. NÓDULOS PULMONARES. *Revista Médica Clínica Las Condes*, vol 26, no 3, 2015, pp 302–312, (ISSN: 07168640).
- [7] Wood DE, Kazerooni EA, Baum SL, Eapen GA, Ettinger DS, Hou L, Jackman DM, Klippenstein D, Kumar R, Lackner RP, Leard LE, Lennes IT, Leung ANC, Makani SS, Massion PP, Mazzone P, Merritt RE, Meyers BF, Midthun DE, Pipavath S, Pratt C, Reddy C, Reid ME, Rotter AJ, Sachs PB, Schabath MB, Schiebler ML, Tong BC, Travis WD, Wei B, Yang SC, Gregory KM, Hughes M. Lung Cancer Screening, Version 3.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, vol 16, no 4, 2018, pp 412–441, (ISSN: 1540-1405).
- [8] MacMahon H, Naidich DP, Goo JM, Lee KS, Leung ANC, Mayo JR, Mehta AC, Ohno Y, Powell CA, Prokop M, Rubin GD, Schaefer-Prokop CM, Travis WD, Van Schil PE, Bankier AA. Guidelines for Management of Incidental Pulmonary Nodules Detected on CT Images: From the Fleischner Society 2017. *Radiology*, vol 284, no 1, 2017, pp 228–243, (ISSN: 0033-8419).
- [9] Wang L, Chen Y, Tang K, Lin J, Zhang H. The Value of 18F-FDG PET/CT Mathematical Prediction Model in Diagnosis of Solitary Pulmonary Nodules. *BioMed Research International*, vol 2018, 2018, (ISSN: 23146141).
- [10] Gould MK, Maclean CC, Kuschner WG, Rydzak CE, Owens DK. Accuracy of Positron Emission Tomography for Diagnosis of Pulmonary Nodules and Mass Lesions. *JAMA*, vol 285, no 7, 2001, p 914, (ISSN: 0098-7484).
- [11] Jeong SY, Lee KS, Shin KM, Bae YA, Kim B-T, Choe BK, Kim TS, Chung MJ. Efficacy of PET/CT in the characterization of solid or partly solid solitary pulmonary nodules. *Lung Cancer*, vol 61, no 2, 2008, pp 186–194, (ISSN: 01695002).
- [12] Miwa K, Inubushi M, Wagatsuma K, Nagao M, Murata T, Koyama M, Koizumi M, Sasaki M. FDG uptake heterogeneity evaluated by fractal analysis improves the differential diagnosis of pulmonary nodules. *European Journal of Radiology*, vol 83, no 4, 2014, pp 715–719, (ISSN: 0720048X).
- [13] Chang C-C, Lin C-J. LIBSVM: A Library for Support Vector Machines. ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology, vol 2, no 3, 2011, pp 1–27, (ISSN: 21576904).
- [14] Kinahan PE, Fletcher JW. Positron emission tomographycomputed tomography standardized uptake values in clinical practice and assessing response to therapy. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, vol 31, no 6, 2010, pp 496–505, (ISSN: 0887-2171).
- [15] Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJG, Giammarile F, Tatsch K, Eschner W, Verzijlbergen FJ, Barrington SF, Pike LC, Weber WA, Stroobants S, Delbeke D, Donohoe KJ, Holbrook S, Graham MM, Testanera G, Hoekstra OS, Zijlstra J, Visser E, Hoekstra CJ, Pruim J, Willemsen A, Arends B, Kotzerke J, Bockisch A, Beyer T, Chiti A, Krause BJ, European Association of Nuclear Medicine (EANM). FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. European journal of nuclear medicine and molecular imaging, vol 42, no 2, 2015, pp 328–54, (ISSN: 1619-7089).

Evaluación de la información espectral de las señales de flujo aéreo y saturación de oxígeno en sangre para la ayuda al diagnóstico de la apnea del sueño infantil

J. Jiménez García¹, G.C. Gutiérrez Tobal¹, M. García Gadañón¹, D. Álvarez González^{1,2}, V. Barroso García¹, F. Vaquerizo Villar¹, A. Martín Montero¹, F. del Campo^{1,2}, L. Kheirandish-Gozal³, D. Gozal³, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {jorge.jimenez, gonzalo.gutierrez, daniel.alvarez, veronica.barroso, fernando.vaquerizo, adrian.martin}@gib.tel.uva.es, {margar, robhor}@tel.uva.es

² Servicio de Neumología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, fsas@telefonica.net

³ Dept. of Child Health, The University of Missouri School of Medicine, Columbia, Missouri, EEUU, gozald@health.missouri.edu

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad diagnóstica del contenido espectral de las señales de flujo aéreo (FA) y saturación de oxígeno en sangre (SpO2) en el contexto del Síndrome de Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) infantil. Se empleó una base de datos de 974 polisomnografías de sujetos pediátricos entre 0 y 13 años. Éstos se dividieron aleatoriamente en dos grupos: entrenamiento (60%) y test (40%). Se extrajeron 16 características espectrales de cada señal y se formaron 3 conjuntos: características de la señal de FA, de la señal de SpO₂, y de ambas señales. Después, se entrenaron clasificadores AdaBoost basados en análisis discriminante lineal a partir de los diferentes conjuntos. Los resultados obtenidos en el grupo de test alcanzaron una precisión del 81.79% empleando un umbral del índice de apnea-hipopnea de 1 evento/h sobre el conjunto de características de ambas señales. Para los umbrales de 5 y 10 eventos/h, se lograron precisiones del 79.49% v 89.74% sobre el conjunto de características de la señal de SpO2. Estos resultados sugieren que el análisis espectral conjunto de las señales de FA y SpO2 puede ser útil en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil al emplear el umbral de índice de apnea-hipopnea de 1 evento/h.

1. Introducción

El Síndrome de la Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) infantil es un trastorno respiratorio del sueño caracterizado por la recurrencia de eventos de apnea y/o hipopnea durante el sueño de los niños. La presencia del SAHS en los niños puede provocar déficits neurocognitivos, trastornos de la conducta, el desarrollo mental y el crecimiento [1]. La prevalencia del SAHS infantil a nivel global oscila entre el 1% y el 5%, con un gran número de casos no diagnosticados [1]. La prueba diagnóstica de referencia para el SAHS es la polisomnografía nocturna (PSG), donde se registran múltiples señales biomédicas: señales cardiacas, neuronales, respiratorias, saturación de oxígeno en sangre (SpO2), etc. [2]. Estas señales se analizan para obtener el índice de apnea-hipopnea (IAH), que determina la presencia y severidad del SAHS [1-2]. La PSG es una prueba compleja, costosa e incómoda para los niños, y las alternativas se centran en la reducción del número de señales utilizadas [3]. Las señales de flujo aéreo (FA) y SpO₂ están directamente involucradas en la definición de los eventos de apnea e hipopnea, por lo que aportan información valiosa para diagnosticar el SAHS [4]. Mediante el análisis de estas señales se podría reducir la incomodidad de la prueba diagnóstica en niños y ampliar el acceso a la misma en zonas con recursos limitados [3]. Por otra parte, el análisis automático de las señales de FA y SpO₂ ha mostrado previamente su utilidad en la ayuda al diagnóstico del SAHS [5-6].

Varios estudios han abordado el análisis automático de las señales involucradas en la PSG con el objetivo de simplificar el diagnóstico del SAHS infantil. Cohen y de Chazal [7] combinaron el análisis temporal de las señales de electrocardiograma y SpO2 mediante un modelo de análisis discriminante lineal (Linear Discriminant Analysis, LDA). En otros trabajos se emplearon características temporales, espectrales y no lineales de los registros de SpO2 para evaluar diferentes métodos de aprendizaje automático [5,8]. Por otra parte, algunos autores han caracterizado la señal de FA mediante análisis espectral y no lineal empleando regresión logística (RL) [6,9]. Estos estudios revelaron que la presencia del SAHS modifica la información espectral de las señales de FA y SpO₂ [6,8]. En uno de los estudios se combinaron características espectrales de la señal de FA con el índice de desaturaciones de oxígeno del 3% [6]. En el caso del diagnóstico del SAHS en adultos, también se han propuesto redes neuronales bayesianas y métodos ensemble learning como AdaBoost (AB) [10]. Sin embargo, no se ha abordado la evaluación diagnóstica conjunta del análisis automático realizado sobre ambas señales en el contexto del SAHS pediátrico.

El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad de la información espectral de las señales de FA y SpO₂ de manera conjunta en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil. Para lograrlo, se extrajeron características espectrales de ambas señales, se seleccionaron las características más relevantes y no redundantes de cada una de ellas y, finalmente, se clasificaron empleando AB.

2. Sujetos y señales

Para este estudio se emplearon señales de FA y de SpO_2 procedentes de una base de datos de PSG formada

25

por 974 sujetos pediátricos. Todos los sujetos fueron remitidos a la unidad del sueño del Comer Children's Hospital, University of Chicago Medicine (Chicago, IL EEUU) ante la sospecha de sufrir SAHS. Para cada sujeto bajo estudio, se obtuvo el consentimiento informado por parte de los tutores legales. El Comité Ético del hospital aprobó el protocolo de investigación. Los sujetos fueron evaluados de acuerdo con las reglas de la American Academy of Sleep Medicine (AASM) [4]. Se emplearon los umbrales de IAH de 1, 5 y 10 eventos/h (e/h) para determinar los grupos de severidad no SAHS, SAHS leve, moderado y severo [3]. En la Tabla 1 se recogen los datos sociodemográficos y clínicos de los pacientes bajo estudio. Los sujetos de la base de datos se dividieron de manera aleatoria en dos conjuntos: entrenamiento (60%) y test (40%). No se encontraron diferencias significativas (test U de Mann-Whitney, p>0.01) en edad, índice de masa corporal (IMC) e IAH entre los ambos conjuntos.

3. Métodos

3.1. Preprocesado

Se preprocesaron los registros de FA y SpO₂ con el objetivo de eliminar artefactos. En primer lugar, las señales se remuestrearon según la recomendación de la AASM [4]: 100 Hz (FA) y 25 Hz (SpO₂). Se aplicó un filtro paso bajo con una frecuencia de corte de 1.5 Hz a las señales de FA. Después, se normalizaron y se rechazaron artefactos de manera automática como en estudios anteriores [9]. En las señales de SpO₂, se eliminaron las muestras con valor inferior al 50% y las muestras con una variación del nivel de saturación superior al 4%/s, como en estudios precedentes [5].

3.2. Extracción de características

En primer lugar, se estimaron las densidades espectrales de potencia (*Power Spectral Density*, PSD) de las señales de FA y SpO₂ empleando el método no paramétrico de Welch [11]. Se utilizaron segmentos con 50% de solapamiento y ventana de Hamming para el cálculo del periodograma. Las longitudes de la ventana fueron de 2^{14} y 2^{16} puntos para las señales de SpO₂ y FA, respectivamente. De esta manera, la duración de los segmentos fue la misma en ambas señales. El número de puntos de la transformada discreta de Fourier fue de 2^{15} (SpO₂) y 2^{17} (FA), respectivamente. A partir de las PSD se extrajeron 8 características espectrales:

	Todos	Entrenamiento	Test
Sujetos (n)	974	584	390
Edad ⁽¹⁾ (años)	6.07±3.43	6.08±3.43	6.06±3.45
Sexo (M/F)	599/375	346/238	253/137
$IMC^{(1)} (kg/m^2)$	20.21±6.63	$20.28{\pm}6.88$	20.11±6.25
$IAH^{(1)}(e/h)$	9.34±17.24	$10.32{\pm}19.61$	7.88±12.79
No SAHS (n)	171	96	75
SAHS Leve (n)	398	229	169
SAHS Moderado (n)	176	113	63
SAHS Severo (n)	229	146	83

⁽¹⁾: Edad, IMC e IAH expresados como media ± desviación estándar. *Tabla 1. Datos sociodemográficos y clínicos de los sujetos.* momentos estadísticos del primer al cuarto orden de los valores de la PSD (MIf - M4f) y los valores máximo y mínimo de la PSD (MA, mA) [8]. También se calculó la frecuencia mediana (fM), como la frecuencia por debajo de la cual se encuentra el 50% de la potencia de la señal [8]. Finalmente, se obtuvo la entropía espectral (*SpecEn*), que cuantifica la irregularidad de la señal [8].

Estos 8 parámetros se obtuvieron tanto para todo el espectro de las señales como para sus respectivas bandas de interés (BI) [5]. Estas bandas se determinaron como aquellas en las que existen mayores diferencias significativas en los valores de PSD(f) entre grupos de severidad tomados de 2 en 2. Al realizar un total de 6 comparaciones, se empleó un umbral de significancia con corrección de Bonferroni de *p*=0.05/6 [6]. Se observaron mayores diferencias significativas en una banda de la señal de FA (BI_{FA}) en 5 comparaciones (todas salvo No SAHS vs. SAHS leve), y en una banda de la señal de SpO₂ (BI_{SpO2}) en 3 comparaciones (No SAHS vs. Severo, Leve vs. Severo y Moderado vs. Severo). Las BI definidas son:

- BI_{FA}: [0.134 Hz 0.176 Hz].
- BI_{SpO2}: [0.018 Hz 0.040 Hz].

Las BI encontradas se muestran en las Figuras 1(a) y 1(b). Ambas BI son similares a las encontradas en estudios previos [5-6].

3.3. Selección de características y clasificación

En la fase de extracción de características se obtuvieron un total de 32 características espectrales: 16 de la señal de FA y 16 de la señal de SpO2. Se aplicó un método de selección de características basado en el Fast Correlation-Based Filter (FCBF), que proporciona un subconjunto de características relevantes y no redundantes entre ellas [12]. El algoritmo FCBF funciona en dos fases: i) se identifican las características más relevantes y ii) se descartan aquellas que sean redundantes con respecto a otra con mayor relevancia [12]. El algoritmo FCBF se aplicó a los datos del conjunto de entrenamiento empleando bootstrap [13]. Se crearon 1000 réplicas del conjunto de entrenamiento mediante muestreo con reemplazo, y se aplicó FCBF en cada una de ellas. Las características seleccionadas en al menos 500 iteraciones fueron finalmente escogidas para análisis posteriores [5].

Para evaluar la complementariedad de la información proveniente de las dos señales, se realizaron las pruebas de selección de características en 3 conjuntos de características diferentes: (1) características de la señal de FA; (2) características de la señal de SpO₂; (3) características de ambas señales, FA + SpO₂.

Las características seleccionadas se clasificaron empleando el clasificador AB. Este método obtiene un clasificador robusto combinando clasificadores base sencillos entrenados en cascada. Se empleó LDA como clasificador base. Los clasificadores base son entrenados otorgando un mayor peso a los fallos cometidos por el anterior [13]. Finalmente, se obtiene una predicción mediante voto ponderado. Al considerar 4 niveles de severidad del SAHS, se empleó el algoritmo AdaBoostM2. Se ajustaron dos parámetros: el número de clasificadores



Figura 1. Gráficos de p-valores en función de la frecuencia y bandas de interés: (a) señal de FA; (b) señal de SpO2.

base (L) y la tasa de aprendizaje (v). Estos valores se eligieron como aquellos que maximizan el coeficiente kappa de Cohen (κ) empleando validación cruzada de 10 repeticiones sobre los datos del conjunto de entrenamiento. Además, se empleó el algoritmo *Synthetic Minority Oversampling Technique* para equilibrar el número de ejemplos de cada clase en la fase de entrenamiento [14].

Tras ajustar el valor de los parámetros L y v, se entrenaron los modelos AB con las características seleccionadas y se evaluaron sobre el conjunto de test. La clasificación proporcionada por AB se comparó con las anotaciones realizadas por los expertos calculándose κ , precisión en 4 clases (*Acc4*), sensibilidad (*Se*), especificidad (*Sp*), precisión (*Acc*), valor predictivo positivo (*VPP*) y valor predictivo negativo (*VPN*).

4. Resultados

Las características de la señal de FA seleccionadas fueron 2: mA_{FA} y mA-BI_{FA}. En el caso de la señal de SpO₂, se seleccionaron 3: M4f-BI_{SpO2}, mA-BI_{SpO2} y fM-BI_{SpO2}. Al combinar las características de ambas señales, las características seleccionadas fueron 5: mA_{FA} , mA-BI_{FA} M4f-BI_{SpO2}, mA-BI_{SpO2} y fM-BI_{SpO2}, las mismas que al seleccionar características de las señales por separado.

Los parámetros óptimos de los modelos AB fueron L=10 y v=0.2 con el conjunto de características de la señal de FA, L=400 y v=1 con la señal de SpO₂, y L=200 y v=1 con el conjunto FA + SpO₂. Los resultados en el conjunto de test de clasificación de 4 clases fueron $\kappa=0.1086$ y $Acc_4=37.44\%$ empleando la señal de FA, $\kappa=0.3225$ y $Acc_4=52.05\%$ empleando la señal de SpO₂, y $\kappa=0.2622$ y

 Acc_4 =48.72% en el conjunto FA + SpO₂. Las matrices de confusión y los resultados obtenidos aplicando los umbrales de IAH se pueden observar en las Tablas 2 y 3.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se han combinado las características espectrales de las señales de FA y SpO₂ y se han clasificado según los niveles de severidad del SAHS empleando el clasificador AB. Se ha evaluado la capacidad diagnóstica de ambas señales por separado y de manera conjunta. La combinación de características espectrales de las señales de FA y SpO₂ es una contribución novedosa. Hasta donde tenemos conocimiento, no hay estudios que hayan considerado la evaluación conjunta de ambas señales en el contexto de la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil.

Los resultados sobre el conjunto de test indican que la mejor clasificación en 4 clases fue la realizada sobre el conjunto SpO₂, logrando los valores más elevados de κ y Acc₄. No obstante, al evaluar los resultados en el umbral de IAH de 1 e/h, es destacable que sobre el conjunto FA + SpO₂ se cometieron 10 falsos negativos y 61 falsos positivos frente a los 44 falsos negativos y 46 falsos positivos en el caso del conjunto SpO₂. De esta manera, la combinación de ambas señales contribuyó a reducir los falsos negativos, que se tradujo en una elevada Se frente a una baja Sp, además de los mejores valores de Acc y VPN. A pesar de ello, estos resultados podrían indicar que el análisis espectral de estas señales no es suficiente para recoger información de las diferencias entre los patrones de los sujetos con SAHS leve respecto a los sujetos sin SAHS. En los umbrales 5 e/h y 10 e/h, los resultados fueron

		Clasificación AB: FA κ =0.1086 No Leve Mod. Sev.			Clasificación AB: SpO ₂ κ=0.3225			Clasificación AB: $FA + SpO_2$ $\kappa=0.2622$					
					No	Leve	Mod.	Sev.	No	Leve	Mod.	Sev.	
Severidad real	No SAHS	3	46	23	3	29	42	4	0	14	50	10	1
	SAHS Leve	4	89	55	21	36	96	37	0	9	107	49	4
	SAHS Moderado	1	27	27	8	6	22	29	6	1	26	31	5
	SAHS Severo	0	22	34	27	2	9	23	49	0	11	34	38

Tabla 2. Matrices de confusión obtenidas en el conjunto de test.

Señal	Umbral	Se	Sp	Acc	VPP	VPN
FA	1 e/h	98.41	4.00	80.26	81.15	37.50
	5 e/h	65.75	58.20	61.03	48.48	73.96
	10 e/h	32.53	89.58	77.44	45.76	83.08
SpO ₂	1 e/h	86.03	38.67	76.92	85.49	39.73
	5 e/h	73.29	83.20	79.49	72.30	83.88
	10 e/h	59.04	98.05	89.74	89.09	89.85
FA + SpO ₂	1 e/h	96.83	18.67	81.79	83.33	58.33
	5 e/h	73.97	73.77	73.85	62.79	82.57
	10 e/h	45.78	96.74	85.90	79.17	86.84

Se, Sp, Acc, VPP y VPN expresados en porcentaje (%).

Tabla 3. Resultados obtenidos en el conjunto de test.

similares en los conjuntos SpO₂, y FA+SpO₂. El mejor valor de *Acc*, así como de *Sp*, y *VPP* se consiguieron con la señal de SpO₂. En este caso, al incluir las características de la señal de FA no se consiguió incrementar el rendimiento diagnóstico. Para lograrlo, es posible que sea necesaria una caracterización más exhaustiva de esta señal.

Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos en trabajos previos. En Hornero *et al.* se empleó una red neuronal artificial entrenada con características de la señal de SpO₂, obteniéndose *Acc* 75.20% (1e/h), 81.70% (5e/h) y 90.20% (10e/h) [5]. Los valores de *Acc, VPP* y *VPN* (1e/h) son superiores en el presente estudio, aunque *Sp* es menor. Evaluando sobre los umbrales de 5e/h y 10e/h los resultados fueron similares. Crespo *et al.* [8] compararon varios clasificadores, obteniendo *Acc* 84.30% (1e/h) y 82,70% (5e/h) al aplicar RL y empleando una base de datos de 176 sujetos frente a las *Acc* de 81.79% (1e/h) y 79.49% (5e/h) de este estudio con una base de datos más amplia.

Este trabajo presenta algunas limitaciones. En primer lugar, se han empleado únicamente las características espectrales de las señales de FA y SpO₂. En próximos estudios sería conveniente extender el análisis de las señales mediante *bispectrum* o *wavelets*. Otra limitación está relacionada con el empleo del clasificador AB. Sería interesante comparar en trabajos futuros el rendimiento diagnóstico de otros algoritmos como las redes neuronales.

En conclusión, el análisis espectral de las señales de FA y SpO₂ de manera conjunta fue útil para incrementar el rendimiento diagnóstico frente a la señal de SpO₂ al evaluar en el umbral de 1 e/h. Los resultados obtenidos sobre el conjunto FA + SpO₂ en este umbral fueron superiores a los logrados por la señal de SpO₂, aunque no se logró incrementar el rendimiento diagnóstico en los demás umbrales. Por su parte, la utilización del clasificador AB produjo resultados similares a los logrados en trabajos previos. Sería interesante realizar una caracterización más exhaustiva de ambas señales, incrementando así su rendimiento diagnóstico de manera conjunta.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y FEDER (DPI2017-84280-R) y la 'European Commission' y FEDER (POCTEP 0378_AD_EEGWA_2_P). J. Jiménez García cuenta con una ayuda para la contratación de personal técnico de apoyo a la investigación financiada por el FSE y la Iniciativa de Empleo Juvenil. A. Martín Montero cuenta con un contrato predoctoral para la Formación de Personal Investigador (PRE2018-085219) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. F. Vaquerizo Villar cuenta con un contrato predoctoral de Formación de Profesorado Universitario (FPU16/02938) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. V. Barroso García cuenta con una ayuda concedida por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el FSE.

Referencias

- Marcus CL et al., "Diagnosis and Management of Childhood Obstructive Sleep Apnea Syndrome," *Pediatrics*, vol. 130, no. 3, pp. e714–e755, Sep. 2012.
- [2] Brockmann PE *et al.*, "Diagnosis of obstructive sleep apnea in children: A systematic review," *Sleep Med. Rev.*, vol. 17, no. 5, pp. 331–340, Oct. 2013.
- [3] Tan HL et al., "Overnight Polysomnography versus Respiratory Polygraphy in the Diagnosis of Pediatric Obstructive Sleep Apnea," Sleep, vol. 37, no. 2, pp. 255– 260, 2014.
- [4] Berry RB et al., "Rules for Scoring Respiratory Events in Sleep: Update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events," J. Clin. Sleep Med., vol. 8, no. 5, pp. 597–619, Oct. 2012.
- [5] Hornero R et al., "Nocturnal Oximetry-based Evaluation of Habitually Snoring Children," Am. J. Respir. Crit. Care Med., vol. 196, no. 12, pp. 1591– 1598, Dec. 2017.
- [6] Gutiérrez-Tobal GC et al., "Diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea: Preliminary findings using automatic analysis of airflow and oximetry recordings obtained at patients' home," Biomed. Signal Process. Control, vol. 18, pp. 401–407, Apr. 2015.
- [7] Cohen G *et al.*, "Automated detection of sleep apnea in infants: A multi-modal approach," *Comput. Biol. Med.*, vol. 63, pp. 118–123, Aug. 2015.
- [8] Crespo A et al., "Assessment of oximetry-based statistical classifiers as simplified screening tools in the management of childhood obstructive sleep apnea," *Sleep Breath.*, vol. 22, no. 4, pp. 1063–1073, Dec. 2018.
- [9] Barroso-García V et al., "Irregularity and Variability Analysis of Airflow Recordings to Facilitate the Diagnosis of Paediatric Sleep Apnoea-Hypopnoea Syndrome," Entropy, vol. 19, no. 9, p. 447, Aug. 2017.
- [10] Gutierrez-Tobal GC et al., "Evaluation of Machine-Learning Approaches to Estimate Sleep Apnea Severity From At-Home Oximetry Recordings," *IEEE J. Biomed. Heal. Informatics*, vol. 23, no. 2, pp. 882–892, Mar. 2019.
- [11] Welch PD, "The Use of Fast Fourier Transform for the Estimation of Power Spectra: A Method Based on Time Averaging Over Short, Modified Periodograms.," *IEEE Trans. Audio Electroacoust.*, vol. AU-15, no. 2, pp. 70– 73, 1967.
- [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] Witten IH et al., Data mining: practical machine learning tools and techniques, Third Ed. Burlington: Morgan Kaufmann/Elsevier, 2011.
- [14] Chawla NV *et al.*, "SMOTE: Synthetic minority oversampling technique," *J. Artif. Intell. Res.*, vol. 16, pp. 321–357, 2002.

Validación Robusta de un Algoritmo de Detección y Delineación de Ondas P con Diferentes Conjuntos de Registros Electrocardiográficos Anotados

A. Ruiz¹, M.A. Arias², M.I. Pachón², P. Langley³, J.J. Rieta⁴, R. Alcaraz¹

¹ Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicación, Universidad de

Castilla-La Mancha, Cuenca, España, {antonio.ruiz, raul.alcaraz}@uclm.es

² Servicio de Cardiología, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, España

³ School of Engineering and Computer Science, University of Hull, Hull, Reino Unido, P.Langley@hull.ac.uk

⁴ BioMIT.org, Departamento Ingeniería Electrónica, Universitat Politecnica de Valencia, Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

El estudio del electrocardiograma (ECG) permite obtener información sobre el estado del corazón y su funcionamiento. Dentro de este registro, el análisis de la onda P ha resultado de mucha ayuda para diagnosticar defectos en la conducción eléctrica auricular. Sin embargo, la detección y delineación manual de esta onda es una tarea muy costosa en tiempo y esfuerzo para el personal clínico y, por ello, se han propuesto bastantes algoritmos para realizarla de forma automática. El funcionamiento de estos métodos se ha validado mayoritariamente sobre la base de datos QT, ya que dispone de anotaciones manuales por expertos clínicos. Sin embargo, en los últimos años varios autores han evidenciado algunas limitaciones de esta base de datos. Por tal motivo, en este trabajo se presenta la validación de un algoritmo previamente publicado con otras dos bases de datos que se han hecho disponibles a la comunidad científica muy recientemente. Los resultados demuestran que la capacidad del método para detectar las ondas P se acerca al 100 % en tramos estables y de ritmo sinusal, pero disminuye hasta el 94 % cuando el ritmo es irregular y/o las ondas P consecutivas presentan variaciones morfológicas importantes. Respecto al error entre las anotaciones obtenidas automáticamente y las disponibles como referencia, no se han observado diferencias relevante en la desviación estándar, sugiriendo que el algoritmo consigue una delineación consistente. Sin embargo, no ocurre lo mismo en cuanto al error medio, evidenciando que es necesario un entrenamiento más extenso que el ofrecido por la base de datos QT.

1. Introducción

En el electrocardiograma (ECG) la onda P refleja la actividad eléctrica de la aurícula, siendo por tanto la mejor fuente de información no invasiva sobre su conducción eléctrica y las distintas patologías asociadas [1]. De hecho, hoy en día está clínicamente aceptado que algunos parámetros obtenidos directamente desde esta onda, tales como su duración, su dispersión o su morfología, aportan información sobre ciertas cardiopatías auriculares, como por ejemplo la fibrilación auricular [2]. Sin embargo, todavía es necesario realizar un esfuerzo muy importante para estandarizar la forma de extraer dicha información, ya que la onda P presenta muy baja amplitud y, por tanto, se ve afectada en gran medida por la presencia de ruido, y además todavía no existe una única definición de sus puntos fiduciales, es decir, de los puntos que marcan su comienzo, su máximo y su final [3]. Otro aspecto también a destacar es que la delineación manual de la onda P es un tarea muy costosa en tiempo y en esfuerzo para el personal clínico, dependiendo en gran medida de la experiencia acumulada [2].

Para paliar en la medida de lo posible estas limitaciones, en los últimos años se han propuesto bastantes algoritmos para detectar y delinear las onda P en registros de larga duración. Muchos de ellos se basan en transformar la señal de ECG para realzar la onda P y así facilitar su detección y delineación. Algunos ejemplos a este respecto son los algoritmos basados en la transformada fasorial [4] o en la transformada Wavelet [5]. Sin embargo, estas estrategias pueden provocar alteraciones morfológicas en la onda P, obteniendo delineaciones imprecisas en algunas situaciones. Por tal motivo, en los últimos años han aparecido otros algoritmos basados en modelar la onda P mediante el uso de diferentes patrones, para así no alterar su morfología inicial y paliar el efecto del ruido [6].

La evaluación del rendimiento de todos estos algoritmos se ha realizado mayoritariamente mediante la base de datos QT, ya que está libremente disponible en PhysioNet [7] y, además, contiene anotaciones manuales realizadas por expertos sobre el comienzo, el máximo y el final de la onda P [8]. Sin embargo, en los últimos años varios autores han evidenciado algunas limitaciones de esta base de datos, tales como la falta de información sobre el canal específico anotado en cada caso, la diversidad de criterios durante el proceso de anotación, o el efecto que la presencia de ruido tuvo en el resultado final del proceso de anotación manual de los registros [9, 10]. Por tal motivo, también han sugerido la necesidad de realizar una validación mucho más robusta de los algoritmos de delineación de onda P sobre nuevas bases de datos anotadas cuidadosamente [11]. Ante este contexto, en el presente trabajo se realiza la validación de un algoritmo previamente publicado [6] con dos bases de datos que recientemente se han hecho disponibles a la comunidad científica [11].

2. Método

2.1. Algoritmo de detección y delineación

Aunque el algoritmo de detección y delineación de la onda P se encuentra publicado en [6], para facilitar la compresión de este trabajo se resumen brevemente los principales detalles de su funcionamiento. Así, el método comienza preprocesando el ECG para eliminar el ruido típico de su adquisición e identificando todos los picos R [6].

A continuación, el proceso de delineación se basa principalmente en la creación de un modelo gaussiano de la onda P para actuar como asistente y en el hecho de que cada onda no se trata de forma independiente, sino que ciertos parámetros calculados a partir de las ondas que le preceden guían la localización de sus puntos fiduciales. Entre estos parámetros se incluyen la distancia aproximada entre el pico R correspondiente y la onda P (dPR); su duración aproximada (durP), que define una ventana de búsqueda expandiendo su anchura por cada lado un 25 % (vbP); el tipo de morfología; la diferencia en tiempo y amplitud entre pico máximo y cada uno de los límites de onda (amplIni, amplFin, tIni, tFin) y algunos coeficientes iniciales de la función gaussiana para facilitar la búsqueda del mejor nuevo ajuste. Algunos de estos parámetros se muestran en la Figura 1. Así pues, estos parámetros se van actualizando con cada nueva onda procesada, con un ratio de impacto de un 20 % sobre el valor existente.

El valor inicial de estos parámetros se obtienen mediante una etapa de inicialización en la que se crea una onda P de referencia. Para ello, se toman los segmentos de señal previos a los cinco primeros picos R detectados en la señal y, mediante un promediado, se crea un intervalo que se denomina también de referencia. Sobre este intervalo, del cual un ejemplo se muestra en la Figura 1(a), se realizarán de forma secuencial los procesos de detección de la onda P, clasificación de su morfología y delineación, los cuales se definen a continuación. Tras ello, tanto la primera como la última etapa se aplican a cada nueva onda.

Para la detección de la onda P se busca el pico de mayor amplitud en una ventana que comienza en el inicio del complejo QRS y se extiende hacia atrás con una duración igual a un tercio de la mediana de las distancias RR. En torno al pico máximo detectado se aísla un segmento de señal resultado en la onda P a delinear. La longitud de este intervalo se establece en 180 ms, aunque se amplia o se reduce en 20 ms en función de si el intervalo RR promedio es demasiado largo o corto, respectivamente. Posteriormente, la onda P detectada se clasifica como monofásica positiva, monofásica negativa o bifásica, ya sea con polaridad positiva-negativa o negativa-positiva. Para tal fin, se emplea un árbol de decisión basado en ajustes gaussianos.



Figura 1. Ejemplo de delineación de una onda P, donde se representan los parámetros fundamentales empleados en el proceso.

Finalmente, para realizar la delineación de la onda P, el modelo gaussiano generado se divide por la mitad para su procesado por separado. Después, a partir de cada uno de ellos, se calcula un umbral de pendiente que se usa para localizar, en cada caso, los límites de la onda como los primeros puntos en excederlo. Seguidamente, una vez los puntos fiduciales del modelo gaussiano se han identificado, en torno a sus respectivas posiciones se define un intervalo de búsqueda como los que se muestran en la Figura 1(b) en forma de área sombreada. Así, se repite el mismo proceso de separación y búsqueda de puntos donde la pendiente exceda el umbral calculado con la señal real, pero restringiendo la búsqueda al intervalo establecido, cuya anchura depende de lo bien que se ajuste el modelo a la señal real, esto es, siendo más estrecho mientras más parecido sea el ajuste gaussiano a la onda P real. En la Figura 1(b) se observa cómo para la posición de inicio este intervalo es más estrecho que para la del final, pues en este caso la primera mitad de la onda se ajusta mejor al modelo gaussiano.

2.2. Entrenamiento del algoritmo

Como también se describe en [6], el método de delineación de las ondas P que se acaba de describir se entrenó empleando algunos registros de la base de datos QT (QTDB). De hecho, para establecer la relación existente entre los valores de pendiente máxima y la correspondiente pendiente
en el límite de la onda P que definen los umbrales mencionados anteriormente, se emplearon 60 ondas P extraídas de diferentes registros y cuya delineación inicial fue supervisada por dos expertos. Además, el rendimiento global del método se evaluó con la base de datos completa, la cual contiene 105 registros de 15 minutos de duración de ECG de dos derivaciones, en los cuales, al menos, 30 latidos están manualmente anotados.

2.3. Validación del algoritmo

Para una validación más robusta e independiente del algoritmo, en el presente trabajo se han empleado dos bases de datos que se han hecho recientemente disponibles a la comunidad científica. Así, en primer lugar, se ha analizado la base de datos *MIT-BIH P-wave Annotations* (MBPDB) disponible en Physionet [7]. Se trata de una base datos compuesta por 12 señales extraídas desde la base de datos *MIT-BIH Arrhytmia database*, en las cuales dos expertos han anotado la presencia de las ondas P. Cabe destacar que los registros tienen una duración de 30 minutos y, además de tramos de ritmo sinusal normal, también presentan episodios de arritmias, tales como fibrilación auricular, taquicardia, bradicardia, etc., presentando así un escenario muy exigente para cualquier detector de onda P.

En segundo lugar, se ha analizado la base de datos *LU elec-trocardiography database* (LUEBD), descrita en [11] y libremente disponible a través de un repositorio de la Univerisdad de Lobachevsky. Contiene 200 registros de ECG de 12 derivaciones y 10 segundos de duración, adquiridos a frecuencia de muestro de 500 Hz desde 200 sujetos, algunos sanos y otros con diferentes patologías cardíacas. A diferencia de la delineación global realizada por los expertos para las dos derivaciones presentes en los registros de la base de datos QT [8], en este caso los expertos han delineado individualmente las ondas P presentes en cada derivación. En total la base de datos contiene 58.429 ondas P anotadas, una cantidad que es seis veces mayor a que la que presenta la base de datos QT.

3. Resultados

Al igual que en [6], el funcionamiento del algoritmo para las bases de datos descritas se ha realizado mediante dos parámetros. Por un lado, se ha calculado la sensibilidad (Se), es decir, el número de ondas P correctamente detectadas con respecto al número total de ondas anotadas por los expertos. Por otro lado, también se ha comparado la distancia entre las anotaciones automáticas obtenidas por el método y las manuales realizadas por los expertos. Esta distancia se ha expresado en términos del valor medio del error (μ) y de su desviación estándar (σ), para los tres puntos fiduciales de la onda P, es decir, para su inicio (P_{ini}), su máximo (P_{max}) y su final (P_{fin}).

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos para las dos nuevas bases de datos analizadas, así como los obtenidos originalmente con la base de datos QT. Esta última información se incluye en la tabla para servir de referencia y facilitar la comparación. Como se puede observar, para la MBPDB únicamente se ofrecen datos de detección de

Base de Datos	Índices	$\mathbf{P}_{\mathrm{ini}}$	$\mathrm{P}_{\mathrm{max}}$	$\mathrm{P}_{\mathrm{fin}}$	
MBPDB	$Se\left(\% ight)$		94.71		
	Se(%)	99.71	100	99.90	
LUEDD	$\mu \pm \sigma({ m ms})$	$-12.4{\pm}10.1$	$1.6{\pm}5.0$	5.1 ± 9.7	
	Se(%)	100	100	100	
Q1DB	$\mu\pm\sigma(\rm ms)$	4.7 ± 9.6	$2.8{\pm}6.7$	$0.6 {\pm} 9.8$	

 Tabla 1. Funcionamiento del método de detección y delineación de ondas P con las bases de datos analizadas

ondas P, ya que en este caso los expertos no delinearon los puntos fiduciales y únicamente indicaron la presencia o ausencia de la onda. Por contra, para las base de datos LUEDB y QTDB se presentan los valores de sensibilidad, así como del error de localización entre las anotaciones obtenida por el algoritmo y las realizadas manualmente por los expertos.

4. Discusión

Los registros de ECG que conforman la base de datos MBPDB se han obtenido de pacientes sufriendo diferentes tipos de arritmias, de manera que presentan un escenario bastante realista y similar al que se encontrarán los algoritmos de detección y delineación de la onda P. De hecho, el estudio de la conducción auricular que refleja la onda P se suele realizar en pacientes con sospecha de arritmia supraventricular y, por tanto, es muy probable que encuentren episodios arrítmicos intercalados con los de ritmo sinusal. En este contexto, el algoritmo propuesto muestra una capacidad de detectar las onda P bastante elevada, ya que la sensibilidad que ha obtenido está por encima del 94 %. No obstante, este valor es bastante inferior al reportado en condiciones de ritmo sinusal.

La principal causa de esta disminución de rendimiento parece deberse a que el algoritmo se basa en la distancia entre picos R consecutivos, así como en los parámetros establecidos en función de las ondas previas. Aunque esta forma de trabajar ofrece buenos resultados en episodios estables de ritmo sinusal, no ocurre lo mismo cuando hay una variabilidad importante en el ritmo cardíaco y/o en la morfología de las ondas P. Como un ejemplo, en la Figura 2 se puede observar como las ondas P se detectan y delinean incorrectamente cuando hay latidos ectópicos ventriculares que hacen el ritmo cardíaco irregular. Por tanto, para poder trabajar de forma totalmente automática en registros de larga duración es necesario que el algoritmo se modifique para ser capaz de identificar estas alteraciones y tomar medidas específicas al respecto.

Por otro lado, en el caso de la base de datos LUEDB, los resultados de sensibilidad han sido muy parecidos a los obtenidos con la base de datos QT, demostrando que el método en intervalos de ECG cortos y estables funciona adecuadamente en presencia de diversas patologías cardíacas. De forma similar, la desviación estándar del error de localización (σ) también ha mostrado valores muy similares, sugiriendo un comportamiento bastante coherente en los dos casos. Por contra, en lo que respecta al error medio de localización, se pueden observar diferencias notables en los valores obtenidos para ambas bases de datos. Esto se podría



Figura 2. Ejemplo de ECG con ritmo ventricular irregular debido a la presencia de latidos ectópicos en el que el algoritmo falla en la detección y delineación de las ondas P.



Figura 3. Diferencia entre las anotaciones automáticas del algoritmo y las realizadas manualmente por los expertos en una onda P de la LUEDB.

deber a que los registros se anotaron de maneras diferentes en ambos casos y el algoritmo está sobreajustado a las anotaciones presentes en la QTDB. Así pues, mientras que en la QTDB los expertos realizaron anotaciones globales para las dos derivaciones disponibles, en la LUEDB cada derivación se anotó de manera individual. De hecho, en la Figura 3 se observa cómo el algoritmo tiende a ubicar los puntos fiduciales en la base de la onda cuando comienza la pendiente ascendente o descendente y, por contra, las anotaciones manuales los ubica un poco más arriba. Por tanto, este resultado sugiere que el algoritmo requiere de una validación mucho más amplia que la permitida por la QTDB para evitar cualquier sesgo durante su funcionamiento en la práctica clínica diaria.

5. Conclusiones

La validación del algoritmo de detección y delineación de las ondas P con dos bases de datos diferentes a la que se ha empleado hasta el momento de referencia (tal como es la QT) ha demostrado que es capaz de trabajar correctamente en tramos cortos y estables de ritmo sinusal, pero que necesita un entrenamiento más extenso para reducir el error de localización. Además, también se ha observado que el método requiere ser ampliado para detectar tramos irregulares de ritmo ventricular o variaciones muy grandes en la morfología de ondas P consecutivas para poder trabajar de forma automática en registros de larga duración y, así, poderse integrar en la práctica clínica diaria.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos de investigación competitiva DPI2017-83952-C3 de MINECO-AEI-FEDER-UE, SBPLY/17/180501/000411 de la JCCLM y AICO/2019/036 de la GVA.

Referencias

- [1] Platonov PG. Atrial conduction and atrial fibrillation: what can we learn from surface ecg? Cardiol J 2008;15(5):402–7.
- [2] Magnani JW, Williamson MA, Ellinor PT, Monahan KM, Benjamin EJ. P wave indices: current status and future directions in epidemiology, clinical, and research applications. Circ Arrhythm Electrophysiol Feb 2009;2(1):72–9.
- [3] Hari KJ, Nguyen TP, Soliman EZ. Relationship between pwave duration and the risk of atrial fibrillation. Expert Rev Cardiovasc Ther Nov 2018;16(11):837–843.
- [4] Martínez A, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of the phasor transform for automatic delineation of single-lead ecg fiducial points. Physiol Meas Nov 2010;31(11):1467–85.
- [5] Martínez JP, Almeida R, Olmos S, Rocha AP, Laguna P. A wavelet-based ecg delineator: evaluation on standard databases. IEEE Trans Biomed Eng Apr 2004;51(4):570–81.
- [6] González F, Alcaraz R, Rieta JJ. Electrocardiographic Pwave delineation based on adaptive slope Gaussian detection. In Computing in Cardiology. 2017; 1–4.
- [7] 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 Jun 2000;101(23):E215–20.
- [8] Laguna P, Mark RG, Goldberg A, Moody GB. A database for evaluation of algorithms for measurement of qt and other waveform intervals in the ecg. In Computers in Cardiology. 1997; 673–676.
- [9] González F, Alcaraz R, Rieta JJ. The physionet QT database: Study on the reliability of P-wave manual annotations under noisy recordings. In Computing in Cardiology. 2017; 1–4.
- [10] Di Marco LY, Chiari L. A wavelet-based ECG delineation algorithm for 32-bit integer online processing. Biomed Eng Online Apr 2011;10:23.
- [11] Kalyakulina AI, Yusipov II, Moskalenko VA, Nikolskiy AV, Kozlov AA, Kosonogov KA, Zolotykh NY, Ivanchenko MV. LU electrocardiography database: a new open-access validation tool for delineation algorithms. arXiv preprint arXiv180903393v2 2018;.

Nuevo método de medición del "jitter" electromiográfico

A. Malanda Trigueros¹, D. Stashuk², J. Navallas Irujo¹, J. Rodríguez Falces¹

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

² System Design Engineering Department, University of Waterloo, Waterloo (ON), Canada. <u>stashuk@uwaterloo.ca</u>

Resumen

La dispersión temporal en el disparo de los potenciales eléctricos de las fibras de una unidad motora ("jitter") se ve aumentada en procesos patológicos o degenerativos que afectan a la unión neuromuscular o a las motoneuronas. Tradicionalmente el "jitter" se ha medido con electrodos de fibra simple, siendo la técnica empleada manual, difícil y subjetiva y los electrodos caros y con potencial riesgo de contagio, por ser reutilizables. Gradualmente se va imponiendo la utilización de electrodos desechables de fibra concéntrica. El "jitter" es más difícil de medir en estos electrodos, pues al ser de mayor tamaño, en ellos se recogen los potenciales de un número mayor de fibras y éstos se solapan más entre sí. En este trabajo se presenta un nuevo método automático para estimar el "jitter" a partir de registros de potenciales de unidad motora, que es válido para registros tomados con ambos tipos de electrodos. Se han realizado varios estudios de simulación, con resultados muy satisfactorios en cuanto al error de estimación del "jitter", (menor del 10% en la mayor parte de los casos estudiados) y en cuanto al número de estimaciones válidas por cada tren simulado (mayor que 1 en gran parte de los casos estudiados). Aunque deben realizarse nuevos trabajos de simulación, el método parece prometedor para su empleo en la práctica clínica.

1. Introducción

La unidad motora (UM) es la unidad estructural y funcional de la contracción muscular voluntaria y se compone de una motoneurona y de las fibras musculares inervadas por ella. En la activación de una UM la motoneurona excita el disparo de potenciales eléctricos en cada una de las fibras de la UM. Un electrodo situado en sus proximidades captará el potencial de acción de unidad motora (PAUM), suma de la actividad de las distintas fibras. Los potenciales de las distintas fibras de la UM se generan de manera síncrona, si bien a lo largo del tiempo existe una pequeña dispersión temporal en el inicio de estos potenciales, a la que se le da el nombre de "jitter". Su desviación estándar de esta dispersión suele llegar hasta los 20 ó 30 µs en sujetos normales. Distintas condiciones fisiopatológicas, que afectan a la unión neuromuscular, o los procesos de denervación-reinervación de algunas neuropatías o de la vejez pueden ocasionar un aumento del "jitter" [1] [2] [3].

Tradicionalmente el "jitter" se ha medido en exploraciones electomiográficas (EMG) con electrodos de fibra simple, cuya parte activa tiene una superficie muy pequeña (del orden de 0.005 mm²) [4]. La técnica consiste en capturar PAUMs en los que únicamente aparezcan dos potenciales de una sola fibra (potenciales de fibra simple o PFS), suficientemente separados (Fig. 1). En los sucesivos disparos se medirá el intervalo entre ambos potenciales (Fig. 1.B), y el "jitter" se calculará como la desviación estándar de los intervalos medidos [1]. Esta técnica resulta técnicamente difícil y larga, y los electrodos son caros y presentan potencial riesgo de infección, al ser reutilizables. El electrodo concéntrico, con una superficie activa más grande (del orden de 0.070 mm²) [4] es el que se utiliza en la mayor parte de las exploraciones EMG clínicas y resulta mucho más sencillo de usar, más barato y además es desechable. Por ello existe una tendencia cada vez más generalizada en la práctica clínica de utilizar el electrodo concéntrico para realizar mediciones de "jitter" [3][4].

Para facilitar esta tarea, los potenciales registrados son filtrados con filtros paso alto [4] o filtros de aceleración [5]. Estos filtros eliminan las bajas frecuencias de la señal y estrechan los picos de los potenciales del PAUM, permitiendo separar mejor sus distintos componentes. También aquí la estimación manual del "iitter" resulta precisa de la destreza del complicada. pues electromiografista para capturar MUAPs con dos o más PFS claramente reconocibles y disjuntos. En 2017 Abdelmaseeh et al. [6], publicaron una técnica automática para la determinación del "jitter" con registros de aguja concéntrica. Esta técnica es computacionalmente compleja y difícil de reproducir, al incluir una parte de decisión basada en ejemplos de señales simuladas; a día de hoy aún no se ha empleado para procesar señales patológicas reales.

El trabajo que aquí se presenta describe un nuevo algoritmo automático, que resulta más sencillo que la técnica de Abdelmaseeh. Este algoritmo se ha probado utilizando un conjunto de señales sintéticas generadas con un simulador de PAUMs basado en modelos matemáticos de generación de PFS.



Figura. 1. Registro (A) y dispersión temporal (B) de un PAUM compuesto de dos PFS

33

2. Material y métodos

2.1. Medición automática del "jitter"

En la Figura 2.A aparecen superpuestos varios potenciales de un tren de PAUMs compuestos por dos PFS. Para calcular el "jitter" los PAUMs son alineados por el primer pico positivo y se mide la desviación estándar de los instantes en los que aparece el segundo pico positivo. En general, dado un punto de alineamiento se puede medir el "jitter" en cualquier instante temporal de la señal, aunque no se corresponda con un pico (Fig. 2.B). Esto se hará hallando el desplazamiento entre segmentos de señal centrados en este instante temporal, correspondientes a distintos potenciales del tren y computando la desviación estándar de esos desplazamientos.

Dependiendo de la diferencia temporal entre los dos potenciales, se obtienen mediciones de "jitter" que podrán diferir apreciablemente del "jitter" real. Esto es debido a la influencia que tiene cada potencial individual sobre la forma de onda del potencial vecino. Sólo cuando dos potenciales están separados al menos 0.5 ms, el "jitter" medido se ajusta estrechamente al "jitter" real. Cuando la separación es inferior, habrá solapamiento entre los potenciales y el "jitter" medido no será fiable [7]. Se precisa, por tanto, encontrar aquellas partes del PAUM cuyo origen provenga mayormente del potencial de fibras aisladas (separada al menos 0.5 ms de los potenciales de otras fibras del PAUM).

En el ejemplo de la Figura 3 se estudia un tren de PAUMs compuesto por dos PFS solapados sólo en su parte central, entre los 4.0 y 4.5 ms. El nivel nominal de "jitter" es de 50 μs. En la Figura 3.A el tren ha sido alineado por el primer pico negativo, alrededor de los 3 ms. En la parte del PAUM correspondiente al potencial de la primera fibra, no se aprecia variabilidad. Por el contrario, la parte del PAUM relativa a la segunda fibra (Fig. 3.C) sí que presenta "jitter", igual que ocurre en la Fig. 2.A. La curva de retardo de la Figura 3.D se ha obtenido computando el "jitter" en todos los instantes temporales de la señal, tomándose como punto de alineamiento el primer pico positivo. En el intervalo alrededor de los 3 ms la curva de retardos toma un valor nulo ("jitter" 0), y entre los 4.5 y los 5.5 ms el valor de la curva es próximo al del "jitter" nominal. Las Figuras 3.C y 3.F son simétricas de las Figuras 3.A y 3.D. Aquí el solapamiento se hace en el segundo pico positivo, alrededor del cual no aparece dispersión, con curva de retardo nula. Por el contrario, en el primer pico el "jitter" es próximo al "jitter" nominal.



Figura 2. Medición del "jitter"



Figura 3. Tren de PAUMs alineado en un punto (círculo rojo) (A-C). Curvas de retardo (D- F)

En la Figura 3.B el tren aparece alineado por un punto próximo a los 4.1 ms, en la región de solapamiento entre los dos PFS. Ni en ese instante, ni antes ni después, los potenciales del tren de PAUM aparecen en un trazo único. Además, el valor del retardo estimado no baja hasta cero alrededor del punto de alineamiento (Fig. 3.E). Lo que sucede es que alrededor del punto de alineamiento sigue existiendo variabilidad porque en ese punto se aglutina la variabilidad de las dos fibras, la cual no puede eliminarse simultáneamente alineando los PAUMs por ese punto.

Este análisis muestra que se puede medir el "jitter" a partir de las mediciones de retardos entre dos segmentos de fibra simple (correspondientes a PFS aislados). Cuando se haga la medición entre dos segmentos, de los cuáles ninguno o sólo uno de ellos sea segmento de fibra simple, el retardo computado no valdrá para estimar el nivel de "jitter" de forma fiable (Fig. 3.E). Además, sólo en los casos en los que las curvas de retardo marcan un "jitter" nulo, los puntos de alineamiento elegidos serán válidos (Fig. 3.D,F).

Llamamos "jitter" de vecindad, al "jitter" existente alrededor de un instante temporal dado, tomándose ese mismo instante como punto de alineamiento. El "jitter" de vecindad se puede aplicar a cualquier punto del intervalo temporal asociado al tren de PAUMs. Si el valor del "jitter" estimado es suficientemente pequeño, ese punto se considerará válido para medir el "jitter". En realidad hará falta encontrar otro punto válido para formar una pareja de puntos válidos entre los cuales se pueda medir el "jitter".

Según esto, puede hacerse una exploración a lo largo todo el intervalo temporal asociado al tren de PAUMs midiendo los valores de "jitter" de vecindad. En la Figura 3.9 se representa la curva de "jitter" de vecindad extraída a partir de un tren de PAUMs formado por 5 PFS, en el que se ha incluido un "jitter" de 50 μ s para cada una de las fibras. Se marcan 4 intervalos potencialmente válidos para calcular el "jitter", obtenidos como puntos donde la curva se encuentra por debajo de un umbral de 10 μ s.

Si hay N intervalos válidos, entonces habrá $N \cdot (N - 1)/2$ parejas distintas de intervalos. En cada pareja, el primer



Figura 4. Curva de "jitter" de vecindad

intervalo puede utilizarse para elegir puntos de alineamiento y el segundo intervalo, para elegir puntos de medición del "jitter". De cada una de las parejas de intervalos se extraerá un valor distinto de "jitter" haciendo el promedio de los valores de "jitter" obtenidos con cada par de puntos de alineamiento y de medición.

Existe la posibilidad de que dos de los intervalos válidos obtenidos de la curva de "jitter" de vecindad correspondan al mismo PFS. En este caso el "jitter" estimado tomará un valor muy pequeño, pues se estará midiendo el "jitter" de un PFS con una referencia que ese mismo PFS. En otras palabras, se habrá estimado la diferencia en el tiempo de disparos de una fibra consigo misma. Ese par de intervalos no será válido para la estimación del "jitter". Pero no basta con eliminarlo del conjunto de pares de intervalos válidos; hay que rehacer los intervalos y las parejas de intervalos completamente. En el ejemplo de la Fig.4, si los intervalos Int3 e Int4 correspondieran al mismo PFS, entonces las parejas de intervalos [Int1, Int3] e [Int1, Int4] corresponderían a la estimación de la misma pareja de PFS, por lo que los valores de "jitter" obtenidos para ellos no deberían darse como resultados distintos e independientes, sino deberían mezclarse para dar un resultado común. Igual ocurriría con las parejas de intervalos [Int2, Int3] e [Int2, Int4]. Es por ello que cuando se da esta situación hay que rehacer los intervalos, mezclando aquéllos que correspondan al mismo PFS, y posteriormente volver a computar el "jitter" entre todas las parejas de intervalos reconstruidas.

Un último elemento de refinamiento al final del proceso consiste en caracterizar los intervalos con parámetros relacionados con la fiabilidad de la estimación del "jitter" (duración, valor promedio del "jitter" de vecindad, etc.), incluyendo además nuevas características aplicables a los pares de intervalos, como la distancia entre intervalos. Los intervalos largos y con nivel de "jitter" de vecindad bajo, cercano al cero, conllevarán una fiabilidad alta en la estimación del "jitter". Asimismo, una pareja de intervalos muy próximos puede corresponder a un mismo PFS, por lo que dará una medida de "jitter" poco fiable. Así pues, cada pareja de intervalos llevará asociada varios parámetros relacionados con su fiabilidad, unos correspondientes a cada uno de sus intervalos por separado y otros a la propia pareja. Empíricamente hemos podido establecer unas reglas sencillas que nos permiten eliminar pares de intervalos en función de los valores que toman sus parámetros asociados. Con ello conseguimos eliminar un cierto porcentaje de estimaciones del "jitter" con valores de error de estimación altos, aún a costa de eliminar algunos valores con estimaciones más precisas.

Habiendo explicado todos los elementos que forman parte del algoritmo de estimación del "jitter", se muestra a continuación su pseudocódigo, en el que a partir de un tren de PAUMs, se obtiene un conjunto de intervalos válidos, cada uno con una estimación independiente de "jitter".

- 1. Filtrado de aceleración
- 2. Obtención de curva de "jitter" de vecindad
- 3. Extracción de intervalos de fibra simple
- 4. Estimación del "jitter" entre pares de intervalos de fibra simple
- 5. Detección de pares de intervalos correspondientes a la misma fibra
- 6. Reconstrucción de intervalos de fibra simple
- 7. Nueva estimación del "jitter" entre pares de intervalos de fibra simple
- 8. Caracterización de intervalos de fibra simple
- 9. Eliminación de intervalos dudosos.

2.2. Pruebas de simulación

Se realizó un conjunto de estudios de simulación para estudiar las prestaciones del método, utilizándose un simulador de PAUMs basado en un reconocido modelo de generación de PFS [8]. Para cada fibra se establecieron sus distancias longitudinal y radial con respecto al electrodo como variables aleatorias comprendidas entre 10 y 25 mm y entre 0.1 y 0.25 mm, respectivamente. Asimismo se establecieron por defecto los siguientes valores de parámetros: longitud de fibras musculares: 63 mm; velocidad de conducción: 4 m/s; 50 potenciales en el tren de PAUMs; 3 PFS por PAUM; nivel de "jitter"; 50 μ s; y nivel de ruido: 0.1 V. Se realizaron los siguientes estudios en los que uno de estos parámetros se somete a variación, manteniendo el resto a los valores de referencia:

- Estudio 1: variación del nivel de "jitter" (de 25 a 125 μs)
- Estudio2: variación del número de PFS que forman los PAUMs (de 2 a 5)
- Estudio 3: variación del número de potenciales de los trenes de PAUMs (de 5 a 100).

En cada estudio y para cada valor del parámetro concreto analizado se simularon 100 trenes de PAUMs. De cada tren se recogieron estimaciones del "jitter" correspondientes a los pares de intervalos válidos detectados. Las estimaciones se analizaron estadísticamente, obteniéndose figuras de "boxplots", percentiles y ratios de "outliers" de los errores relativos en la estimación del "jitter", así como curvas del número de pares de intervalos válidos y del número de trenes de PAUMs válidos, esto es, en los que se ha logrado estimar el "jitter" de forma fiable.

3. Resultados

Los resultados del Estudio 1 (Fig. 5.A-B) dejan ver que el error relativo disminuye a medida que aumenta el nivel de "jitter". Un porcentaje amplio de las estimaciones tienen

un error relativo menor del 10%. El ratio de "outliers", definidos como muestras cuyo porcentaje de error supera el 25%, y se encuentra siempre por debajo de 0.011. Por último, a medida que aumenta el "jitter" nominal, el número de pares de intervalos y trenes de PAUMs válidos decrece drásticamente, hasta un insuficiente valor de 12, para un nivel de "jitter" de 125 μ s.

En el Estudio 2 (Fig. 5.C-D) se observa que el error relativo aumenta al aumentar el número de PFS. Un porcentaje amplio de las estimaciones tiene un error relativo menor del 5%. El ratio de "outliers" se encuentra por debajo del 0.007. Por último, a medida que aumenta el número de PFS, el número de pares válidos también aumenta, mientras que el número de trenes válidos se mantiene estable en un rango de valores alrededor de 70.

En el Estudio 3 (Fig. 5.E-F), el error relativo se va haciendo más pequeño a medida que aumenta el número de potenciales del tren de PAUMs, aunque ya para 20 potenciales el error se estabiliza y la mayor parte de los casos dan un porcentaje de error menor del 5%. El ratio de "outliers" es de 0.042 con 5 potenciales y menor que 0.007 para más potenciales. Por último, se obtienen 20 y 47 pares y trenes válidos, respectivamente, para UMs de 5 fibras, pero se hacen mayores de 60 y 100, para un número de fibras mayor. La estimación resulta, por tanto, precisa y fiable para 10 ó más potenciales por tren de PAUMs.

4. Discusión

Aquí no se realizado un estudio comparado entre el método propuesto en este trabajo y la técnica de Abdelmaseeh, ya que no se ha podido disponer de los programas que implementan esta técnica, siendo su programación excesivamente compleja. Aunque los modelos de simulación utilizados, las pruebas de evaluación y las figuras de mérito empleadas son distintas de las de nuestro estudio, podemos fijarnos en las figuras de mérito publicadas en el artículo referenciado. Allí encontramos unas tablas en las que se da el porcentaje de error de estimación y el llamado "yield" (porcentaje de las veces que el algoritmo es capaz de llegar dar una estimación del "jitter") en función de dos parámetros internos del método. La mejor configuración elegida por los autores da un porcentaje de error de 8.9%, con un "yield" de 85.3%. Grosso modo, este valor del error es comparable con los obtenidos en nuestros estudios 1, 2 y 3. Por su parte, nosotros conseguimos muchas más estimaciones de jitter, como podemos observar en las curvas de pares válidos (trazo azul) de las Figuras 5.B, 5.D y 5.F, en las que se registran valores por encima de 100, que es el número de trenes de PAUMs en cada simulación. Esto es así porque de cada tren de PAUMs nuestro algoritmo es capaz de extraer varios pares de regiones válidas y, por tanto, no sólo una sino varias estimaciones de jitter.

5. Conclusiones y líneas futuras

 Se ha desarrollado un algoritmo de estimación automática de "jitter" para registros de EMG con electrodos concéntricos, que proporciona errores de estimación menores del 10% para la mayor parte de las estimaciones realizadas, y un ratio de estimaciones válidas por tren



Figura 5. "Boxplots" de los errores relativos en la estimación del "jitter" (A, C, E) (la caja central marca los percentiles 25 y 75) y número de pares válidos (azul) y trenes válidos (rojo) (B, D, F), del Estudio 1 (A-B), Estudio 2 (C-D) y Estudio 3 (E-F)

simulado mayor que 1.0 en la mayor parte de las situaciones planteadas. Sólo con un número de potenciales por tren muy bajo (5) ó con un nivel de "jitter" nominal muy alto (125 μ s) estos rendimientos no llegan a cumplirse.

- El nuevo algoritmo permite obtener mediciones automáticas fiables y precisas del "jitter" utilizando electrodos concéntricos, eliminándose así los inconvenientes de dificultad práctica, precio elevado y riesgo de infecciones de los registros con electrodos de fibra simple.
- El siguiente paso es realizar estudios con señales reales patológicas, en las que se pueda confirmar la utilidad clínica del método.

Referencias

- Trontelj JV, Stalberg E. Single-fiber and macro electromyography. In T. E. Bertorini (ed), Clinical evaluation and diagnostic tests for neuromuscular disorders. Butterworth Heinemann, Amsterdam, 2002.
- [2] De Carvalho M, Swash M. Lower motor unit dysfunction in ALS. Clinical Neurophysiology 127 (2016) 2670–2681.
- [3] Hourigan ML, McKinnon NB, Johnson M, Rice CL, Stashuk DW, Doherty TJ. Increased motor unit potential shape variability across consecutive motor unit discharges in the tibialis anterior and vastus medialis muscles of healthy older subjects. Clin Neurophysiol. 2015 Dec; 126(12):2381-9.
- [4] Stalberg E. Jitter analysis with concentric needle electrodes. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1274 (2012) 77–85.
- [5] Stashuk DW. Detecting single fiber contributions to motor unit action potentials. Muscle Nerve 1999; 22:218–29.
- [6] Abdelmaseeh M, Stashuk DW. Motor unit potential jitter: a new measure of neuromuscular transmission instability. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng. 2017 Jul;25(7):1018-1025.
- [7] Navallas J. Simulation in relation to concentric needle jitter. International Congress of Clinical Neurophysiology, Berlin. 2014.
- [8] Dimitrov GV, Dimitrova NA. Precise and fast calculation of the motor unit potentials detected by a point and rectangular plate electrode, *Med. Eng. Phys.*, vol. 20, pp. 374-381, 1998.

Diagnóstico del ritmo cardíaco durante la resucitación cardiopulmonar mediante técnicas de aprendizaje profundo

I. Isasi Liñero¹, L. López de Larruzea¹, U. Irusta Zarandona¹, E. Aramendi Ecenarro¹

¹BioRes, Departamento de ingeniería de comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España, {iraia.isasi, libe.lopezdelarrucea, unai.irusta, elisabete.aramendi }@ehu.eus

Resumen

Las compresiones torácicas inducen artefactos en el electrocardiograma (ECG) que dificultan el diagnóstico fiable del ritmo durante la reanimación cardiopulmonar (RCP). Esto obliga al rescatador a detener la terapia durante el análisis del ritmo comprometiendo la circulación y, por lo tanto, reduciendo la probabilidad de supervivencia del paciente. Este estudio propone un nuevo enfoque para la discriminación de ritmos desfibrilables y no desfibrilables durante compresiones torácicas. El método se basa en técnicas de aprendizaje profundo que han demostrado ser más precisas en múltiples problemas de clasificación en el ámbito de la ingeniería biomédica. Se usó una base de datos compuesta por 506 ritmos desfibrilables y 1697 no-desfibrilables adquiridos de pacientes en parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria. El modelo fue entrenado y testeado mediante un esquema de validación cruzada de 10 iteraciones (10-fold CV). Este proceso se repitió 10 veces para caracterizar estadísticamente los resultados en términos de sensibilidad (SE), especificidad (SP) y precisión balanceada (BAC). Los resultados se compararon con los obtenidos utilizando técnicas de aprendizaje automático tradicionales. El método de aprendizaje profundo proporcionó un rendimiento similar al obtenido mediante el algoritmo tradicional con una SE, SP y BAC de 95.0 %, 96.1 % y 95.5%, respectivamente.

1. Motivación

Las compresiones torácicas representan una componente esencial de la reanimación cardiopulmonar (RCP) ya que tienen como objetivo mantener un flujo sanguíneo mínimo en los órganos vitales hasta la llegada de un desfibrilador externo automático (AED) [1]. Sin embargo, las compresiones a menudo hacen que el ECG no sea interpretable debido al artefacto de movimiento que produce errores de diagnóstico en el algoritmo *shock/noshock* del AED. Por lo tanto, en la práctica actual, es necesaria la interrupción de las compresiones para analizar de forma fiable el ECG, lo que reduce el beneficio hemodinámico de la RCP y la probabilidad de supervivencia del paciente.

En los últimos años se han logrado importantes avances en el diagnóstico de ritmo durante compresiones. Las primeras estrategias en este ámbito de centraron en el uso de filtros adaptativos para eliminar el artefacto de compresión seguido de un algoritmo de decisión propio de un AED comercial para el diagnóstico *shock/no-shock* del ECG filtrado [2]. Sin embargo, estas soluciones no cumplían con los requisitos de rendimiento de la AHA (*American Heart Association*) para un diagnóstico fiable de ritmo. Los residuos del filtrado se identificaron como principal factor de confusión en los algoritmos de diagnóstico comerciales, dado que éstos estaban originalmente diseñados para analizar ECG-s durante las pausas de compresión, es decir, sin artefacto [2]. De hecho, recientes estudios han demostrado que un análisis de ritmo fiable es posible si los algoritmos de decisión *shock/no-shock* se diseñan para clasificar el ECG en presencia de residuos de filtrado [3,4]. Este nuevo enfoque se centra en combinar características de discriminación *shock/no-shock* extraídas del ECG filtrado mediante técnicas de aprendizaje automático avanzadas como *Support Vector Machine* (SVM) [3] o *Random Forest* (RF) [4].

En el ámbito del aprendizaje supervisado, las técnicas de aprendizaje profundo han resultado ser muy eficientes para tareas de clasificación de señales biomédicas, aportando importantes avances incluso al campo de la resucitación cardiopulmonar [5,6]. En concreto, un estudio reciente ha demostrado que las técnicas de aprendizaje profundo presentan un mejor rendimiento que los algoritmos de aprendizaje automático tradicionales en el diagnóstico *shock/no-shock* del ritmo durante intervalos libres de compresiones torácicas [7]. Además, estas técnicas permiten que el propio algoritmo aprenda y seleccione las características de discriminación más relevantes que presenta la señal, eliminando así la necesidad de una extracción de características manual.

Sobre estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es desarrollar un algoritmo de aprendizaje profundo para la discriminación de ritmos desfibrilables y no desfibrilables en presencia de los artefactos causados por la terapia RCP. El método se compone de un filtro adaptativo para suprimir el artefacto seguido de un algoritmo de diagnóstico *shock/no-shock* basado en técnicas de aprendizaje profundo.

2. Materiales

El conjunto de datos utilizado en este estudio fue obtenido por los servicios de emergencias de Londres, Estocolmo y Akershus (Noruega) entre Marzo de 2002 y septiembre de 2004. Las señales de ECG y de profundidad de compresión (PC) adquiridas mediante una versión modificada del desfibrilador Heartstart 4000 de Laerdal fueron exportadas a Matlab y remuestreadas a 250 Hz. Los instantes de las compresiones (t_k) se anotaron automáticamente en la señal de profundidad usando un detector de picos negativos con umbral de -1.5 cm. Para este estudio se extrajeron automáticamente segmentos de 20 s con las siguientes características: un solo tipo de ritmo cardíaco durante todo el segmento, compresiones continuas durante un intervalo de 15 s y un intervalo de 5 s libre de compresiones ya sea antes o después del intervalo de compresiones (Figura 1). El intervalo de 15 s se utilizó para desarrollar y evaluar el algoritmo de decisión *shock/no-shock* mientras que los intervalos sin compresiones fueron usados por clínicos especialistas para anotar el ritmo subyacente del paciente (*ground truth*, GT).

La base de datos del estudio consta finalmente de 2133 segmentos pertenecientes a 272 pacientes de los cuales 506 son ritmos desfibrilables (principalmente fibrilaciones ventriculares, FV) y 1697 no-desfibrilables que incluyen pacientes en asistolia (AS) y con ritmos organizados (OR).

3. Métodos

3.1. Filtrado del artefacto RCP

Para suprimir el artefacto RCP se propone un filtro adaptativo RLS (*Recursive-Least-Squares*) para la eliminación de interferencias periódicas [8]. En resumen, durante las compresiones el artefacto se modela como una interferencia casi-periódica compuesta por 4 armónicos de frecuencia fundamental variable, f_0 (n):

$$s_{ct}(n) = A(n) \sum_{k=1}^{4} a_k(n) \cos(k\omega_0(n)n) + b_k(n) \sin(k\omega_0(n)n)$$
(3)

$$f_0(n) = \frac{1}{t_k - t_{k-1}} \qquad t_{k-1} < nT_s \le t_k$$
(4)

donde la frecuencia angular discreta es $\omega_0(n) = 2\pi f_0(n)T_s$, T_s es el periodo de muestreo y A(n) es una envolvente de amplitud que diferencia intervalos con compresiones (A=1) e intervalos sin compresiones (A=0).

El filtro RLS estima de forma adaptativa los coeficientes $a_k(n)$ y $b_k(n)$ y resta el artefacto estimado al ECG corrupto, $s_{cor}(n)$, para así obtener el ECG filtrado $\hat{s}_{ecg}(n)$, es decir, el ritmo subyacente del paciente. El ancho de banda del filtro RLS viene regulado por el factor de olvido λ , que se fijó a 0.999 [4].

3.2. Algoritmo de decisión shock/no-shock

El algoritmo de decisión *shock/no-shock* se diseñó para analizar tres ventanas consecutivas de 3 s dando un diagnóstico cada 9 s. El segmento de 9 s corresponde al intervalo 3-12 s del ECG filtrado (intervalo que se resalta en la Figura 1) y el diagnóstico se dio usando el criterio de voto por mayoría en las tres ventanas de análisis.

El algoritmo de aprendizaje profundo empleado en este trabajo para la decisión *shock/no-shock* se compone de dos bloques principales (Figura 2): una red neuronal convolucional (CNN) que se encarga de extraer características de alto nivel del ECG y una etapa de clasificación que haciendo uso de estas características produce una salida binaria. Los segmentos de 3 s se remuestrearon a 125 Hz para acelerar el proceso de entrenamiento y a su vez evitar el sobre ajuste de la red.

La CNN consta de tres sub-bloques de igual arquitectura. Utilizar varias capas convolucionales es una práctica común para extraer características cada vez más complejas. Cada CNN se compone de una capa convolucional que aplica 16 filtros de orden 16 al ECG seguido de una capa de normalización de batch y una función de activación lineal rectificada (RELU). Se aplicó un mecanismo de padding para conservar la longitud de la señal a la salida de cada etapa convolucional. A continuación, se empleó una unidad de max-pooling para reducir a un tercio la dimensionalidad de las características extraídas por la CNN. Por último, la capa de dropout aplica una técnica de regularización que permite reducir el sobre ajuste de la red eliminando aleatoria y temporalmente neuronas de las capas internas de la red neuronal.



Figura 1. Un segmento de 20 s de duración que corresponde a un paciente con ritmo organizado (OR). Los primeros 5 s muestran el ritmo subyacente del paciente en un intervalo libre de compresiones en los primeros dos paneles. Los siguientes 15 s muestran el ECG artefactado en el primer panel y el ECG filtrado en el segundo panel. El panel inferior muestra la señal de profundidad de compresión (PC) con los instantes de compresión (t_k) marcados.

La última capa es la de clasificación. Mediante las características obtenidas se realiza la clasificación utilizando 10 neuronas de entrada y dos neuronas de salida para la clasificación *shock/no-shock*. Por último, se empleó la función *softmax* para normalizar los valores de las neuronas de salida de forma que las probabilidades sumen 1.

A modo de referencia se compararon los resultados con los obtenidos siguiendo un esquema de aprendizaje automático clásico implementado en [4] para el mismo propósito, el análisis *shock/no-shock* del ritmo durante la RCP. Este método se compone de un filtro adaptativo (RLS) para suprimir el artefacto de las compresiones, una etapa de extracción de características basada en la SWT (*Stationary Wavelet Transform*) y un clasificador *Random Forest* para el diagnóstico *shock/no-shock*. Se utilizaron las 25 características más seleccionadas por el *Random Forest* en [4] (Figura 6). Los hiperparámetros del RF, el número mínimo de observaciones por hoja y el número de características por división se fijaron a 3 y a 7, de acuerdo a los valores óptimos obtenidos en [4].



Figura 2. Arquitectura del algoritmo de decisión *shock/no-shock* basado en técnicas de aprendizaje profundo. Se indican las dimensiones de los datos a la salida de cada bloque.

3.3. Arquitectura y evaluación del modelo

Se utilizó un esquema de validación cruzada de 10 iteraciones (10-fold CV) para entrenar y testear el modelo. Las particiones se crearon de forma que las prevalencias de los ritmos coincidieran en la medida de lo posible con las prevalencias de los ritmos desfibrilables y no desfibrilables observados en la base de datos, y todos los segmentos asociados a un mismo paciente fueron asignados a la misma partición. Durante la fase de entrenamiento, se replicaron los segmentos de ritmos desfibrilables (sin alteración) para reducir el desequilibrio entre clases (técnica de *data augmentation*).

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) y precisión balanceada (BAC) calculada como la media entre la SE y la SP. Este proceso se repitió sobre 10 particiones aleatorias para estimar la distribución estadística de las métricas de rendimiento.

4. Resultados

_

La tabla I muestra las distribuciones de las métricas de rendimiento obtenidas mediante el algoritmo propuesto (DL) y la solución basada en técnicas de aprendizaje automático (ML). En ambas soluciones se cumplen los requisitos de rendimiento de la AHA fijados para intervalos libres de compresiones: SE>90% y SP>95%. Como se observa en la tabla I, el método basado en las técnicas de aprendizaje profundo presenta un BAC ligeramente superior al obtenido con la solución tradicional. Sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa, con un p-valor medio de 0.5 para el test de McNemar sobre las 10 particiones 10fold CV de los datos. La función de costes en el test de McNemar fue modificada para triplicar la penalización de los ritmos desfibrilables, de forma que el test de McNemar comparase los clasificadores en términos de BAC.

	SE (%)	SP (%)	BAC (%)
DL	95.0 (94.4-95.1)	96.1 (95.7-96.4)	95.5 (95.1-95.7)
ML	92.7 (92.1-92.9)	97.5 (97.4-97.6)	95.1 (94.8-95.2)

Tabla 1. La mediana (rango interdecil) de las métricas de rendimiento.

La figura 7 muestra 4 ejemplos ilustrativos de dos segmentos correctamente clasificados (paneles a y b) y dos segmentos mal clasificados (paneles c y d) tanto para ritmos desfibrilables (paneles b y d) como para ritmos no desfibrilables (paneles a y c). Como se observa, los errores del clasificador se deben principalmente a residuos del filtrado. Los residuos que generan cambios bruscos en la amplitud del ECG (residuos con espigas) a menudo se interpretan como los complejos QRS de ritmos organizados en pacientes que se encuentran en FV (panel d), mientras que los residuos desorganizados de alta frecuencia son a veces mal interpretados como FV en pacientes con ritmos no-desfibrilables (panel c).

Aunque el método propuesto cumple con las especificaciones de la AHA, presenta un rendimiento similar a las técnicas de aprendizaje automático tradicionales. Sin embargo, los algoritmos de aprendizaje profundo mejoran su rendimiento conforme los datos de entrenamiento aumentan mientras que los algoritmos de aprendizaje automático no mejoran su precisión a partir de una determinada cantidad de datos. Estimamos que un



Figura 3. Cuatro segmentos de 20 s de duración (misma composición que la figura 1) que corresponden a dos pacientes en FV (b, d) y dos pacientes con ritmo organizado (a, c). Los primeros dos segmentos (a, b) son correctamente clasificados por el clasificador mientras que en los últimos dos segmentos (c, d) el algoritmo toma una decisión errónea.

aumento del 50% de la base de datos sería suficiente para que las técnicas de aprendizaje profundo superaran el rendimiento de las técnicas convencionales, lo cual es viable con las base de datos de las que ya disponemos. Además, las técnicas de aprendizaje profundo permiten eliminar la etapa de extracción de características, y nuestros resultados igualan ya a los obtenidos con las características que mayor precisión han proporcionado hasta la fecha.

5. Conclusiones

Este trabajo introduce un nuevo método para el diagnóstico *shock/no-shock* fiable del ritmo durante la RCP. Consiste en un filtro adaptativo RLS que suprime el artefacto de las compresiones seguido de un algoritmo de diagnóstico basado en técnicas de aprendizaje profundo. Este último se compone de 3 bloques convolucionales y una etapa de clasificación formada por una red neuronal clásica

Esta nueva estrategia para diagnosticar el ritmo durante compresiones podría incrementar el rendimiento y facilitar el desarrollo e implementación de las soluciones clásicas propuestas en la literatura, abriendo la posibilidad de que una RCP sin interrupciones sea implementable en la práctica real. La ausencia de interrupciones implica que el flujo sanguíneo generado por las compresiones torácicas no se vea comprometido durante la terapia RCP, incrementando la probabilidad de supervivencia del paciente.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido ayuda financiera del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, proyecto

RTI2018-101475-BI00, junto con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Ha recibido también financiación del Gobierno Vasco mediante la beca PRE-2019-2-0066 y la subvención a grupos IT-1229-19.

Referencias

- 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: e386010.
- [3] Ayala U et al. A reliable method for rhythm analysis during cardiopulmonary resuscitation, *Biomed research international*, vol 2014, 2014: e872470.
- [4] Isasi I et al. Automatic Cardiac Rhythm Classification With Concurrent Manual Chest Compressions. *IEEE Access*, vol 7, 2019: e2935096.
- [5] Elola A et al. Deep Neural Networks for ECG-Based Pulse Detection during Out-of-Hospital Cardiac Arrest. *Entropy*, vol 21, 2019: e21030305.
- [6] Kwon J et al. Deep-learning-based out-of-hospital cardiac arrest prognostic system to predict clinical outcomes. *Resuscitation*, vol 139, 201, pp 84-91.
- [7] Picon A et al. Mixed convolutional and long short-term memory network for the detection of lethal ventricular arrhythmia. *PloS one*, vol 14, 2019: e0216756.
- [8] Xiao Y et al. Fast RLS Fourier analyzers capable of accommodatin frequency mismatch. *Signal Process*, vol 87, 2007, pp 21.

Aplicación de la Entropía Multiescala a la Predicción del Éxito de la Cardioversión Eléctrica en Fibrilación Auricular

E. Cirugeda¹, E. Plancha², V. M. Hidalgo³, S. Calero³, J.J. Rieta⁴, R. Alcaraz¹

¹ Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicación,

Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca, España, {eva.cirugeda, raul.alcaraz}@uclm.es

² FISABIO-Servicio de Medicina Interna, Hospital Francesc de Borja, Gandia, España, plancha_eva@gva.es

³ Unidad de Arritmias, Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, Albacete, España

⁴ BioMIT.org, Dep. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politecnica de Valencia, Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente en la práctica clínica diaria y la mayor causa de accidentes cerebrovasculares. El tratamiento más extendido para la FA persistente es la cardioversión electrica (CVE). Este proceso, aun siendo beneficioso y simple, conlleva riesgos asociados como bradicardias, tromboembolismos y arritmias ventriculares malignas y su tasa de éxito apenas supera el 80 % tras el primer mes. Por ello, resulta de gran interés conocer el posible resultado de la CVE a priori y, así poder evitar las posibles complicaciones derivadas de la misma. Con tal fin, este trabajo presenta una caracterización de la actividad auricular (AA) en FA persistente antes de una CVE. Para ello, se proponen técnicas basadas en análisis de complejidad multiescala y se comparan con la capacidad de clasificación de otros parámetros utilizados recientemente como la frecuencia dominante de la AA y su amplitud. Los resultados obtenidos muestran que el uso de entropías multiescala para la caracterización de la AA consiguen alcanzar una correcta clasificación en torno al 90%, mientras que la frecuencia fundamental o la amplitud de las ondas fibrilatorias apenas alcanzan un 70 %. Por tanto, se puede concluir que el uso de técnicas de complejidad que analizan diferentes escalas temporales mejoran la capacidad de estimación de la recurrencia en FA.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente en la práctica clínica diaria, estimándose que actualmente afecta a más de 33 millones de personas [1]. Se trata de una taquiarritmia caracterizada principalmente por activaciones auriculares desorganizadas y extremadamente rápidas, causando un deteriorio mecánico de la función auricular. Se observa y diagnostica a partir del electrocardiograma (ECG), dónde las ondas P son reemplazadas por oscilaciones de duración, tamaño y amplitud variables, denominadas ondas fibrilatorias y la respuesta ventricular suele ser bastante rápida e irregular [2, 3].

De acuerdo a su evolución temporal, esta arritmia se clasifica en cuatro grupos: paroxística, persistente, persistente de larga duración y permanente. La FA persistente se considera un factor de riesgo muy importante de accidente cerebrovascular [1]. Su tratamiento se basa en la aplicación de técnicas de control y restauración del ritmo sinusal normal (RSN), siendo la más utilizada la cardioversión eléctrica (CVE). Este procedimiento consiste en la aplicación de una o más descargas eléctricas transtorácicas de forma controlada hasta que se restaura el RSN o se alcanza la energía máxima permitida. Generalmente, los pacientes son pretratados con medicación antiarrítmica que suele incrementar de forma notable la probabilidad de éxito de la CVE, no obstante, casi el 20 % todavía retornan a FA tras el primer mes, el 40-60 % lo hace antes de tres meses y el 60-80 % antes del primer año.

Aun siendo considerada como la técnica más efectiva, la CVE también es la mayor causante de arritmias ventriculares malignas, tromboembolismos arteriales y otras complicaciones derivadas [2–5]. Así pues, ser capaz de caracterizar y, en cierta forma, predecir el éxito de una CVE es de gran interés clínico, considerando como casos de éxito aquellos que no reviertan a FA tras un período de tiempo. Este proceso podría evitarse en pacientes con reducida probabilidad de éxito, limitando las complicaciones asociadas. Hasta la fecha se han realizado distintos estudios para predecir el éxito de la CVE en pacientes con FA, que se basan en la estimación de distintos parámetros desde la actividad auricular (AA), bien obtenidos de forma invasiva [6–8] o no invasiva [9,10]. Sin embargo, muy pocos han usado técnicas de complejidad para este propósito [11–14].

Este trabajo continúa el estudio presentado en [13], dónde se hace uso de la entropía muestral (SampEn) para predecir la recividad tras la CVE. De hecho, se propone el uso de la entropía multiescala (MSE) [15] para mejorar la capacidad de la SampEn. Se trabaja sobre la hipótesis de que las series temporales derivadas de sistemas complejos presentan estructuras y dinámicas de variación a distintas escalas temporales, algo que la SampEn no tiene en cuenta [16].

2. Materiales y método

2.1. Base de datos

La base de datos (BBDD) analizada contiene 35 registros de ECG de 12 derivaciones adquiridos a una frecuencia de muestreo de 1024 Hz y clasificados como recurrentes o no recurrentes en función de si los pacientes mantuvieron el

Parámetro	FA no recidiva	FA recidiva
Número de Pacientes	14	21
Hombres	4	8
Patología cardíaca subyacente	2	5
Duracion FA (meses)	9.5 (1-36)	10.5 (1-54)
Diametro aurícula izquierda	43.88 ± 8.26	46.23 ± 6.20

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes analizados

RSN tras un mes. Se debe mencionar que en este estudio solo se han considerado pacientes que tras un único choque eléctrico con una energía de 200J revirtieron a RSN. La Tabla 1 muestra las características clínicas de los pacientes analizados en función de la recidividad de la FA.

También cabe indicar que solamente se ha analizado la derivación V1 por presentar la AA de mayor amplitud, así como que únicamente se ha caracterizado el intervalo de 1.5 minutos antes de la descarga eléctrica. Una descripción más detallada de la BBDD se puede encontrar en [13], dónde ya se hizo un uso previo de la misma.

2.2. Caracterización de la actividad auricular

La AA se ha extraído mediante el conocido método de la sustracción del QRST promedio [17]. No obstante, en primer lugar se ha preprocesado el ECG para eliminar la línea de base, la interferencia de red y el ruido de alta frecuencia. La línea de base se eliminó mediante estimación y sustracción; su estimación se obtuvo a través de un filtro paso bajo de tipo *Butterworth*, orden 3 y con frecuencia de corte de 0.8 Hz. La interferencia de red se eliminó aplicando un filtro de ranura con frecuencia central 50 Hz y ancho de banda 4 Hz. Finalmente, se filtró la señal paso bajo a 40Hz para eliminar el ruido de alta frecuencia [18].

La detección de los complejos QRS se realizó mediante el algoritmo descrito en [19]. La duración del segmento QRST determinada de forma experimental, se estableció igual al 65 % del RR medio. Cuando el ECG presentó latidos ectópicos, se realizó un proceso en cascada, aplicando primero el algoritmo de cancelación sobre los latidos ectópicos y, en segundo lugar, sobre los latidos normales en la señal resultante. Los latidos ectópicos se detectaron y clasificaron en base a un algoritmo de reconocimiento de patrones y detección por umbral [20]. Una vez extraída la AA, se caracterizó mediante distintos índices y parámetros, tales como la amplitud absoluta y normalizada (FWA, FWAn), la frecuencia dominante (DAF), y dos medidas de entropía (SampEn, MSE).

Considerando que la AA, referida como aa(n), es una señal discreta de duración N muestras se obtuvieron la FWA y FWAn de acuerdo a:

$$FWA = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^{N} |aa(n)|^2} \tag{1}$$

$$FWAn = \frac{FWA}{\sqrt{\frac{1}{N_b}\sum_{k=1}^{N_b} |x(k)|^2}}$$
(2)

donde x(n) refiere al ECG, k indexa el complejo QRS y N_b el número total de latidos. La DAF se obtuvo a partir

del periodograma de Welch promedio (PSD), estimado en segmentos de 20s de duración y solapados 15s entre sí, es decir,

$$DAF = arg\{max\{PSD(f)\}\} \quad f \in [3, 12] Hz.$$
 (3)

Las dos entropías se estimaron sobre la actividad auricular principal (AAP), la cual se obtuvo filtrando la AA mediante un filtro *Chebychev* centrado en la DAF y ancho de banda 4 Hz. Ambos índices, SampEn y MSE, evalúan la similaridad interna en una serie, de tal forma que obtienen mayores valores cuanto menor es su regularidad. La SampEn se calculó mediante el algoritmo propuesto en [16], el cual la estima como el ratio de verosimiltud entre el número de patrones coincidentes de longitud m con respecto al número de patrones coincidentes de longitud m+1 y tolerancia r. Para ello, a partir de la AAP (u(n), de longitud N)se definen los subvectores v(i) de longitud m que mediante una distancia de similaridad, d_{ij} , definen la probabilidad de aparición de patrones similares $A^m(r)$, es decir,:

$$v(i) = [u(i), u(i+1), \dots, u(i+m-1)]$$
 $i=1: N-m$ (4)

$$d_{ij} = \max_{k} \{ \| v(i+k-1) - v(j+k-1) \| \} \quad k=1:m, \ i \neq j$$
 (5)

$$A^{m}(r) = \frac{1}{N \cdot m} \sum_{i=1}^{N-m} \left(\frac{1}{N \cdot m \cdot I} \sum_{i=1, i \neq k}^{N-m} d_{ij} \le r \right)$$
(6)

finalmente SampEn se obtiene de acuerdo a [16]:

$$SampEn(m, r, N) = -\log \{A^{m+1}(r)/A^m(r)\}$$
 (7)

Por su parte, la MSE se definió para estimar la entropía en escalas temporales superiores, dónde la SampEn puede subestimarla en series muy largas o sobreestimarla si las series presentan dinámicas en escalas temporales superiores [15]. La MSE calcula la SampEn sobre la versión escalada y_i^{τ} [15] de la AAP, es decir,

$$y_j^{\tau} = \frac{1}{\tau} \sum_{i=(j-1)\tau+1}^{j\tau} u(n) \qquad j = l : \lfloor N/\tau \rfloor$$
(8)

donde τ respresenta la nueva escala temporal. Los subvectores se estiman sobre y_i^{τ} [15].

Se debe notar que la AAP se dividió en segmentos de 30s de duración con un desplazamiento de 5s entre segmentos consecutivos, garantizando así una estimación suficientemente robusta al preservar una longitud mínima de 1500 muestras en la escala máxima, τ =20. Los parámetros seleccionados para el cálculo de SampEn fueron r=0.2 y m=2, de acuerdo a la recomendaciones encontradas en trabajos previos [15, 16].

2.3. Análisis estadístico

Para evaluar las prestaciones de los índices propuestos como predictores de la recidividad de la FA se aplicó, en primer lugar, el test de hipótesis de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de los datos. En caso de que dichas distribuciones fueran normales se consideró la prueba de t-Student y, en caso contrario, el test de Wilconson



Figura 1. Valores medianos de MSE en función de la escala τ , en rojo FA recidiva (FAR) y en azul FA no recidiva (FANR).

τ	FAR	FANR	p	AUC (%)
1	0.106 ± 0.021	0.095 ± 0.064	0.033	71.1
5	0.506 ± 0.050	0.494 ± 0.271	0.063	68.2
10	0.595 ± 0.020	0.576 ± 0.171	0.012	74.7
15	0.612 ± 0.041	0.585 ± 0.110	0.001	86.0
20	0.663 ± 0.108	0.614 ± 0.093	0.001	89.6

Tabla 2. Caracterización de la AA en FA recidiva (FAR) y no recidiva (FANR) mediante MSE. Valores medianos, rangos intercuartílicos, sinificación estadística (p) y área bajo la curva ROC (AUC) para distintos valores de τ .

para evaluar la separabilidad estadística de la FA recidiva (FAR) y no recidiva (FANR). Finalmente la capacidad de clasificación de cada índice se evaluó a través del área bajo la curva ROC (AUC).

3. Resultados

La Figura 1 muestra los valores medianos de MSE obtenidos para FAR y FNAR en función de τ . Se observa un comportamiento similar en ambos casos, aunque los valores de MSE son ligeramente superiores para la FAR. Además, el test de separabilidad reportó significación estadística ($p \le 0.05$) en casi todas las escalas, excepto en $\tau = \{3, 4, 5\}$, y el AUC se mantuvo por encima del 68.2 % en todos los casos. A modo de ejemplo, la Tabla 2 muestra los valores medianos, la significación estadística y el AUC para algunos valores de τ . El mayor valor de AUC fue 89.9 % para la escala 19.

Respecto al resto de parámetros analizados, la Tabla 3 muestra los valores medianos, la significancia estadística y el AUC en función de la recidividad de la FA. Para facilitar la compresión, en ella se considera únicamente la escala óptima para la MSE, de igual forma solo se muestra la FWAn, ya que resultó en una mejor clasificación que la FWA. Se observa como las medidas de complejidad mejoran la capacidad de clasificación de la DAF, parámetro más utilizado en la práctica clínica [7]. La Figura 2 muestra gráficamente los resultados mediante sus distribuciones de cajas y bigotes, observándose una distinción clara entre los dos grupos FAR y FANR para todos los parámetros analizados.

4. Discusión y conclusiones

Los resultados que se acaban de describir muestran como, aun cuando la FWAn y la DAF son capaces de predecir con una exactitud del 70 % una CVE, el uso de medidas de complejidad ofrece un mejor rendimiento. De hecho, la MSE para la escala 19 consigue una mejora de casi el 20 %.

Los valores de SampEn obtenidos en este estudio (ver Ta-

Parám.	FAR	FANR	p	AUC
FWAn	0.067 ± 0.055	0.113 ± 0.064	0.009	71.2
DAF	5.625 ± 1.250	5.125 ± 1.500	0.075	69.7
SampEn	0.106 ± 0.021	0.095 ± 0.064	0.033	71.1
MSE 19	0.646 ± 0.093	0.607 ± 0.095	0.001	89.9

Tabla 3. Caracterización de la AA en FA recidiva (FAR) y no recidiva (FANR) mediante los distintos parámetros considerados. Valores medianos, rangos intercuartílicos, significanción estadística (p) y área bajo la curva ROC (AUC).



Figura 2. Distribución de los valores obtenidos para los grupos FAR y FANR por los índices (a) DAF (Hz), (b) FWAn, (c) SampEn y (d) MSE (τ =19).

bla 3) son algo superiores a los obtenidos en [13] (0.074 \pm 0.015 para FANR y 0.098 \pm 0.013 para FAR) aunque exhiben el mismo comportamiento. Este resultado por tanto está en consonancia con las observaciones previas obtenidas por otros estudios, que han sugerido que una señal que recurre en FA tras un tiempo será a priori más desorganizada y caótica que aquella que consigue mantener el RSN transcurrido un mes [13]. Las diferencias entre este trabajo y [13] pueden estar asociadas, por un lado, a la mayor longitud de los segmentos considerada en este estudio frente a los 10s utilizados en [13] y, por otro lado, al valor utilizado para r. No obstante, incluso los resultados obtenidos en [5, 13] difieren entre sí, aun cuando ambos trabajos utilizan la misma BBDD y los mismos valores para los parámetros en el cálculo de SampEn. Los dos trabajos utilizan una metodología similar para la estimación de la AA basada en cancelación del QRST promedio. Estos algoritmos presentan un detrimento en la estimación de la AA debido a un mayor residuo remanente a baja frecuencia. La mayor diferencia entre ambos trabajos radica en el proceso de estimación de la AAP, mientras que en [13] se utilizó un

filtro FIR, en [5] se empleó una descomposición Wavelet. En el presente trabajo se consideró un filtrado más agresivo mediante el uso de un filtro IIR Chebychev de tipo II, de forma que se pudiera eliminar mayor parte del residuo. Estos resultados sugieren que cuanto más exacta sea la estimación de la AAP, las capacidades de predicción en la recurrencia de la FA se verán aumentadas.

Por otro lado, en [14] se propone el uso de la entropía wavelet (WE), siendo los resultados obtenidos en términos de valores medios y capacidad clasificatoria similares a los obtenidos con la MSE presentados aquí. La WE analiza el comportamiento de la entropía en distintas escalas temporales, aunque de forma distinta a la MSE. En cualquier caso, los resultados que se han presentado son coherentes con la hipótesis de que la AA tiene mayor relevancia en escalas temporales superiores.

Así pues, se puede concluir que el uso de medidas de dinámicas no lineales, en particular, las entropías multiescala mejoran sustancialmente la predicción del resultado de la CVE antes de aplicarla, alcanzado cotas de hasta el 90%, siempre y cuando se considere la escala temporal adecuada. Adicionalmente, realizar la mejor estimación posible de la AAP, minimizando el residuo en baja frecuencia, también permite mejorar la clasificación y predicción de la recidividad de la FA con mayor éxito de lo que se ha conseguido hasta el momento en la literatura.

Estas conclusiones ponen de manifiesto la necesidad de seguir investigando la aplicación de herramientas no lineales para la caracterización de la AA. Así pues, en futuros estudios se deberían analizar otras variaciones de la MSE como su versión refinada [21] o su versión compuesta [22], las cuales pueden aportar mayor robustez en la estimación de la MSE en escalas muy grandes. También sería muy interesante analizar otras medidas de complejidad como las basadas en lógica borrosa [23], o en análisis simbólico [24].

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos de investigación competitiva DPI2017-83952-C3 de MINECO-AEI-FEDER-UE, SBPLY/17/180501/000411 de la JCCLM y AICO/2019/036 de la GVA.

Referencias

- Miyazawa K, Lip G. Atrial fibrillation. Medicine 2018; 46(10):627–631.
- [2] Piccini J, Fauchier L. Rhythm control in atrial fibrillation. The Lancet 2016;388(10046):829–840.
- [3] Gutierrez C, Blanchard D. Atrial fibrillation: diagnosis and treatment. Am Fam Physician 2011;83(1):61–68.
- [4] Jaakkola S, Lip G, Biancari Fa. Predicting unsuccessful electrical cardioversion for acute atrial fibrillation (from the AF-CVS score). Am J Cardiol 2017;119(5):749–752.
- [5] Alcaraz R, Rieta JJ. A non-invasive method to predict electrical cardioversion outcome of persistent atrial fibrillation. Med Biol Eng Comp 2008;46(7):625–635.
- [6] Andersson J, Rosenqvist M, Tornvall P, Boman K. NT-proBNP predicts maintenance of sinus rhythm after

electrical cardioversion. Thromb Res 2015;135(2):289–291.

- [7] Melduni R, Lee H, Bailey K, *et al.* Real-time physiologic biomarker for prediction of atrial fibrillation recurrence, stroke, and mortality after electrical cardioversion: A prospective observational study. Am Heart J 2015;170(5):914– 922.
- [8] Cervigón R, Moreno J, Millet J, Castells F. Multiscale principal component analysis to predict atrial fibrillation reversion to sinus rhythm. In CinC. Sep. 2016; 465–468.
- [9] Seeck A, Rademacher W, Fischer C, *et al.* Prediction of atrial fibrillation recurrence after cardioversion–interaction analysis of cardiac autonomic regulation. Med Eng Phys 2013;35(3):376–382.
- [10] Luong C, Thompson D, Gin K, *et al.* Usefulness of the atrial emptying fraction to predict maintenance of sinus rhythm after direct current cardioversion for atrial fibrillation. Am J Cardiol 2016;118(9):1345–1349.
- [11] Alcaraz R, Rieta JJ. Time and frequency recurrence analysis of persistent atrial fibrillation after electrical cardioversion. Physiol Meas 2009;30:479–489.
- [12] Alcaraz R, Abásolo D, Hornero R, Rieta JJ. Optimal parameters study for sample entropy-based atrial fibrillation organization analysis. Comp Meth Prog Biomed 2010; 99(1):124–132.
- [13] Alcaraz R, Hornero F, Rieta JJ. Noninvasive time and frequency predictors of long-standing atrial fibrillation early recurrence after electrical cardioversion: Predictors of cardioversion outcome. Pacing Clin Electrophysiol 2011; 34(10):1241–1250.
- [14] Alcaraz R, Rieta JJ. Application of wavelet entropy to predict atrial fibrillation progression from the surface ECG. Comp Math Meth Med 2012;245213–9.
- [15] Costa M, Goldberger A, Peng C. Multiscale entropy analysis of complex physiologic time series. Phys Rev Lett 2002; 89:068102.
- [16] Richman J, Moorman J. Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2000;278(6):H2039–H2049.
- [17] Stridh M, Sörnmo L. Spatiotemporal QRST cancellation techniques for analysis of atrial fibrillation. IEEE Trans Biomed Eng 2001;48(1):105–111.
- [18] Sörnmo L, Laguna P. ECG Signal Processing in Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications. 1st edition. Elsevier Academic Press, 2005.
- [19] Behar J, Johnson A, Clifford G, Oster JA. Comparison of single channel fetal ECG extraction methods. Ann Biomed Eng 2014;42(6):1340–1353.
- [20] Martínez A, Alcaraz R, Rieta JJ. Ventricular activity morphological characterization: Ectopic beats removal in long term atrial fibrillation recordings. Comput Methods Programs Biomed 2013;109:283–292.
- [21] Valencia J, Porta A, Vallverdu M, et al. Refined multiscale entropy: Application to 24-h holter recordings of heart period variability in healthy and aortic stenosis subjects. IEEE Trans Biomed Eng 2009;56(9):2202–2213.
- [22] Wu S, Wu C, Lin S, Wang C, Lee K. Time series analysis using composite multiscale entropy. Entropy 2013; 15(3):1069–1084.
- [23] Azami H, Fernández A, Escudero J. Refined multiscale fuzzy entropy based on standard deviation for biomedical signal analysis. Med Biol Eng Comput 2017; 11517(17):1647–1652.
- [24] Jomaa M, Van Bogaert P, Jrad N, *et al.* Multivariate improved weighted multiscale permutation entropy and its application on EEG data. Biomedl Signal Process Control 2019; 52:420–428.

Evaluación Automática de la Fragmentación en Electrogramas de Fibrilación Auricular para Evaluación del Sustrato Auricular

A. Vraka¹, F. Hornero Sos², J. Osca Asensi³, O. Cano Pérez³, R. Alcaraz Martínez⁴, J.J. Rieta Ibáñez¹

¹ BioMIT.org, Departamento Ingeniería Electrónica, Universitat Politecnica de Valencia, España, {aivra, jjrieta}@upv.es
² Servicio de Cirugía Cardiaca, Hospital Universitari I Politecnic La Fe, España, hornero_fer@gva.es

³ Unidad de Arritmias, Serv. de Cardiología, Hospital Universitari I Politecnic La Fe, España, {osca_joa, cano_osc}@gva.es
 ⁴ 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 más diagnosticada, siendo la ablación por catéter (AC) el tratamiento estrella. En AC se analiza la fragmentación de electrogramas (EGMs) para evaluar el sustrato auricular. Este trabajo presenta un método de adaptación rápida para estimar fragmentación en EGMs de FA. Se ha ensayado sobre 119 EGMs bipolares, clasificados en cuatro tipos (I, II, III y IV) según el criterio de Wells. Se constituyeron tres grupos. El primero, con 24 EGMs, conteniendo los 8 más representativos de cada tipo de FA. El segundo, con el total de 119 EGMs y el tercero con 20 EGMs pseudo-reales generados con FA tipo IV a partir de los originales. Los registros fueron normalizados y limpiados de ruido y la dimensión de correlación de grano grueso (DCGG) se aplicó sobre cada EGM en segmentos de un segundo. Se clasificaron los grupos según el tipo de FA. La precisión clasificatoria fue del 100 % para el grupo 1 y 84-85.7 % para el grupo 2, usando validación cruzada de 10 pliegues. El análisis de curva ROC proporcionó 100 % de Sensibilidad y Especificidad para el grupo 1 y 87.5 % Sensibilidad y 93.6 % de Especificidad para el grupo 2. Además, se identificaron los EGM del grupo 3 con un 100 % de precisión. La DCGG ha mostrado cualidades excelentes para cuantificar el fraccionamiento de EGMs con FA y, por tanto, podría ser usada como herramienta de asistencia en tiempo real en procedimientos de AC.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardiaca más común en el mundo desarrollado, estando asociada a un incremento significativo de la mortalidad [1]. Los retos presentes en el campo de la FA se centran en mejorar la comprensión de sus mecanismos de inicio y perpetuación, así como en la selección de la estrategia terapéutica idónea para cada paciente. Entre éstas, debe mencionarse la cardioversión farmacológica, la eléctrica, la ablación quirúrgica concomitante y la ablación por catéter (AC) [1]. Esta última se ha convertido en la estrella del tratamiento de FA desde que se descubrió que la mayor parte de la arritmogenia fibrilatoria puede anularse mediante el aislamiento de las venas pulmonares [2]. Esta terapia ha demostrado gran efectividad en pacientes con FA paroxística, que tienen episodios con terminación espontánea en menos de 7 días [1]. Sin embargo, la AC en pacientes con FA persistente presenta tasas de recurrencia significativamente mayores debido al fenómeno de remodelado auricular [3]. Se considera que la fibrosis es el principal fenómeno de remodelado que favorece la perpetuación de la FA [4]. Por ello, se ha intentado detectar tejido fibrótico midiendo voltajes reducidos, frecuencias dominantes elevadas y buscando zonas con electrogramas (EGMs) fragmentados [1].

Diversos estudios previos han intentado abordar tanto la detección como la ablación de zonas auriculares con presencia de EGMs complejos y fragmentados (CFAEs). Sin embargo, sus resultados han sido contradictorios según su efectividad [5,6] e incluso según la manera en que éstos definen los CFAEs [7,8]. Esto evidencia la necesidad de una definición clara de CFAEs que permita desarrollar métodos de evaluación del sustrato auricular de forma fiable. Una alternativa interesante a este reto es la dimensión de correlación, así como su versión alterada de grano grueso (DCGG), que son técnicas procedentes de la teoría del caos [9] y que han sido usadas previamente en estudios de evaluación de organización de FA [10, 11].

Este trabajo presenta una versión adaptada de la DCGG capaz de estimar el grado de fragmentación de EGMs bipolares con FA. El método ha sido ideado para trabajar en tramos cortos con la intención de proporcionar un seguimiento rápido de la fragmentación y ser efectivo en la identificación de EGMs clasificados según los tipos de Wells [12]. Además es capaz de detectar cambios rápidos de tipo de FA eficientemente para poder trabajar en tiempo real en dispositivos médicos de AC.

2. Materiales

La base de datos ha estado compuesta por 119 EGMs bipolares de 10 segundos de duración provenientes de 22 pacientes sometidos a ablación por catéter de FA. Los registros se obtuvieron mediante un sistema LabSystem[®] Pro (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) con una frecuencia de muestreo de 1 kHz. Estos EGMs fueron clasificados manualmente por expertos en función del tipo de FA siguiendo el criterio establecido por Wells [12]. La Figu-



Figura 1. Ejemplo de EGMs bipolares de diversos tipos atendiendo a la clasificación de Wells [12]. El tipo IV consiste en la alternancia entre cualquiera de los tipos I, II o III.

ra 1 ilustra un ejemplo del aspecto presentado por EGMs típicos de cada tipo de FA. En total, 11 EGMs se clasificaron como de tipo I, 36 de tipo II y 72 de tipo III.

La clasificación manual por tipos de Wells puede ser controvertida, especialmente en aquellos EGMs cuya fragmentación está en la frontera entre dos tipos. Por ello, los expertos seleccionaron 8 EGMs claramente representativos de cada tipo de FA, según Wells, para realizar una prueba de clasificación con elevada fiabilidad en su resultado. Además, se generaron 20 EGMs pseudo-reales de tipo IV mediante la concatenación de EGMs reales de diferentes tipos I, II y III. El análisis de los datos se ha realizado en base a tres grupos de EGMs. El grupo 1 estuvo compuesto por los 24 EGMs más representativos de los tres tipos principales de FA, habiendo 8 de cada tipo. El grupo 2 contenía todos los EGMs de la base de datos y, finalmente, el grupo 3 contenía los 20 EGMs pseudo-reales de tipo IV.

3. Métodos

3.1. Preprocesado y análisis de registros

Con el objeto de evitar que las posibles variaciones de amplitud presentes en los EGMs tuvieran efecto en el resultado de aplicar la DCGG, cada registro se normalizó por su valor cuadrático medio (RMS) para preservar su información morfológica. Se descartaron otros tipos de normalización por poder producir la pérdida absoluta de información sobre amplitud, lo cual puede provocar errores en la estimación de la DCGG en casos de componentes no relacionadas con la FA. A continuación los EGMs se filtraron paso bajo con una estructura de Butterworth de tercer orden y frecuencia de corte de 300Hz. Después se aplicó una etapa de eliminación de ruido basada en descomposición wavelet [13]. Finalmente, los EGMs fueron divididos en segmentos de 1 segundo para poder capturar con rapidez cualquier cambio o evolución en su fragmentación y, al mismo tiempo, para establecer un marco computacional estable para la DCGG independientemente de la duración de la señal.

Para el cálculo de la DCGG, una señal de N puntos definida como $X = (x_1, x_2, ..., x_N)$ necesita ser reconstruida primeramente en un espacio de fase *m*-dimensional [14], usando un retardo temporal τ entre vectores [10, 15], en consecuencia, se puede expresar como

$$\mathbf{Y}_{p}^{(m)} = (x_{p}, x_{p+\tau}, x_{p+2\tau}, \dots, x_{p+(m-1)\tau}), \quad (1)$$

donde $m = 1, 2, 3 \dots$ y $p = 1, 2, \dots, N - (m-1)\tau$. Entonces la integral de correlación $C^{(m)}(r)$ puede calcularse como la proporción de pares vectores con una distancia entre sí menor de r, es decir

$$C^{(m)}(r) = \frac{2}{N_{ref}(N_{ref}-1)} \sum_{i=1}^{N_{ref}} \cdot \sum_{j>i}^{N_{ref}} \Theta(r - \|Y_i^{(m)} - Y_j^{(m)}\|), \quad (2)$$

donde Θ es la función de Heaviside, $\|\cdot\|$ es la distancia Euclídea de cada par elegido y N_{ref} es el número de puntos de referencia, seleccionado de entre los N - (m - 1)vectores de la Ecuación 1.

La dimensión de correlación se calcula a partir de las áreas de saturación de la representación logarítmica de $C^{(m)}(r)$ en función de r, representadas secuencialmente por las dimensiones embebidas m = 1, 2, ..., 20 [11].

En bioseñales, la DCGG puede considerarse como un estimador grueso de la dimensión de correlación que no expresa con precisión la dimensión de las dinámicas del proceso subyacente. En cambio, es muy útil como medida comparativa entre dinámicas con diferentes niveles de organización [10, 11], por lo que es posible hacer uso de la DCGG estableciendo una dimensión embebida m y una distancia finita entre pares de vectores r_{cg} , obteniendo

$$DCGG^{(m)}(r_{cg}) = \frac{ln[C^{(m)}(r_{cg})]}{ln(r_{cg})}.$$
 (3)

La DCGG se calculó en segmentos de un segundo y se obtuvo un valor final para cada EGM como la mediana de los mismos. La selección de parámetros se realizó para maximizar la discriminación entre tipos de FA, calculando el retardo τ para el mínimo de la información mutua que, en este caso, fue $\tau = 8$ ms. Por su parte N_{ref} se estableció como 1/3 de la longitud de cada segmento [16], en nuestro caso 334 puntos. La distancia r_{cg} se calculó como la mitad de su desviación estándar, normalizada por su amplitud pico a pico [11]. Finalmente, la DCGG se calculó para m = 1, 2, ... 20 y se seleccionó la dimensión con mayor capacidad discriminatoria entre tipos de FA, resultando m = 4 la mejor opción.

Tras el ajuste de parámetros, el número de puntos de referencia N_{ref} se incrementó de nuevo en dos pasos más, hasta alcanzar el 50 % (500 puntos) y el 100 % (1000 puntos) de la longitud de cada segmento, realizándose de nuevo el análisis. Sin embargo, no se obtuvieron mejoras en los resultados clasificatorios y, además, el tiempo de ejecución aumentó sustancialmente. En consecuencia, el número de puntos se mantuvo finalmente en $N_{ref} = 334$.

3.2. Evaluación del método

Sobre los grupos 1 y 2 se aplicó la DCGG para clasificar EGMs según su tipo de FA. Primeramente, se usó la



Figura 2. Descripción de los pasos llevados a cabo por el algoritmo desarrollado para detectar segmentos de EGM de tipo IV en el grupo 3.

estrategia uno frente a todos mediante análisis de curva ROC (receiver operating characteristic) para evaluar la capacidad discriminatoria de la DCGG. Después, se hizo uso de análisis basado en árboles de decisión para evaluar estadísticamente su capacidad clasificatoria mediante validación cruzada de k = 10 pliegues.

Para el grupo 3, se desarrolló un algoritmo que asignaba el EGM bajo estudio a uno de los tipos de FA según Wells (I, II, III o IV). El método hacía uso del análisis de DCGG descrito en la sección § 3.1 y, haciendo uso de los umbrales obtenidos en los árboles de decisión para el grupo 2, se calculó la DCGG segmento a segmento. Si un EGM se clasificaba como tipo III en uno solo de sus segmentos, entonces el análisis se repetía al completo para dicho EGM en búsqueda de segmentos tipo I y II. En caso de encontrarlos, dicho EGM se clasificaba como tipo IV. La Figura 2 muestra los pasos descritos en análisis de los EGMs del grupo 3. El estudio para este grupo se basó en verificar el número de EGMs correctamente clasificados como tipo IV.

4. Resultados

Los resultados de Sensibilidad y Especificidad del análisis basado en curva ROC para los grupos 1 y 2 se muestran en la Tabla 1. Por su parte los valores medios y desviaciones estándar tras aplicar DCGG a los tres grupos se muestran en los diagramas de cajas y bigotes de la Figura 3. Se puede observar que la DCGG permite que los EGMs del grupo 1 sean distinguibles en su totalidad por tipos de FA.

Dado que el análisis de curva ROC (Tabla 1) ofreció resultados muy satisfactorios para el grupo 2, la Figura 3 muestra solapamientos muy reducidos entre EGMs de este grupo. Así, la FA de tipo I se pudo distinguir con un 97.22 % de Sensibilidad y 100 % de Especificidad de los otros dos tipos, mientras que la FA de tipo III pudo ser clasificada con un 87.5 % de Sensibilidad y 93.62 % de Especificidad.

Por su parte, los valores de DCGG para FA de tipo IV estuvieron situados entre los de FA tipo II y III. Esto implica que dichos EGMs habrían sido clasificados erróneamente como alguno de éstos dos últimos tipos en caso de no haber usado clasificación por DCGG segundo a segundo.

Tipo de FA	AUC	Sensibilidad	Especificidad
	Gr	upo 1	
Tipo I vs II/III	1,0000	$100,\!00\%$	$100,\!00\%$
Tipo III vs I/II	$1,\!0000$	$100{,}00\%$	$100{,}00\%$
	Gr	rupo 2	
Tipo I vs II/III	0,9907	$97{,}22\%$	$100,\!00\%$
Tipo III vs I/II	$0,\!9515$	$87{,}50\%$	$93{,}62\%$

Tabla 1. Resultados obtenidos del análisis de curva ROC para los grupos 1 y 2. AUC es el área bajo la curva ROC.



Figura 3. Diagramas de cajas y bigotes que muestran la distribución de los valores de DCGG para cada tipo de FA y cada grupo de EGMs analizado en el estudio.

Grupo	Nº de EGMs	Precisión	Errores
1	24	100%	0
2	119	$84,\!00\%-85,\!70\%$	17
3	20	100%	0

Tabla 2. Precisión clasificatoria y errores obtenidos mediante árboles de decisión para los grupos 1, 2 y 3.

Finalmente, la Tabla 2 muestra los resultados de precisión clasificatoria obtenidos mediante árboles de decisión para todos los grupos definidos en el presente estudio.

5. Discusión

Este trabajo ha presentado el primer estudio de la literatura que hace uso de la DCGG para estimar el grado de fragmentación de EGMs bipolares de FA. Además, también es el primer estudio que aplica segmentación de 1-s en los registros, lo que ha permitido obtener resultados más robustos de clasificación de FA por tipos. De hecho, la selección de segmentos de otras longitudes temporales, como 2, 5 y 10 segundos, se probó en el grupo 2 obteniendo peores resultados clasificatorios de 81,5 %, 79,8 % y 76,5 %, respectivamente. El método posibilita, por una parte, la detección de cambios súbitos en la morfología de la FA para clasificar registros como FA tipo IV y, por otra, una mayor inmunidad a EGMs registrados con muchas inestabilidades, es decir registros cuya morfología varía notablemente en tiempos muy cortos. De hecho, es habitual que el catéter de registro en estudios de fragmentación de EGMs con FA pueda cambiar de posición muchas veces a lo largo de la ablación, produciendo así EGMs inestables [17].

Hasta el momento, los trabajos previos que han hecho uso de la DCGG aplicados a bioseñales no se han puesto de acuerdo en cuanto a los parámetros computacionales a usar ni tampoco en cuanto a la longitud de la serie analizada [10, 11]. De hecho, la elección de dichos parámetros debe realizarse cautelosamente y sus valores pueden variar significativamente dependiendo de las propiedades de cada bioseñal. En este sentido, el analizar segmentos fijos de un segundo resulta ventajoso para ajustar los parámetros óptimos y maximizar la capacidad discriminatoria para cualquier longitud de señal. Esto posibilita, además, una sencilla implementación en dispositivos médicos que trabajen en tiempo real, ya que el tiempo de ejecución en un ordenador personal moderno es de pocos segundos.

Finalmente, dado que la amplitud de la señal puede afectar a los valores de DCGG, la normalización de cada EGM por su valor RMS permite una comparación de fragmentación independiente de las variaciones de amplitud, que tan frecuentes son en registros con catéter [17], proporcionando resultados más robustos para el método.

6. Conclusiones

El método basado en DCGG que propone este trabajo ha demostrado resultados excelentes en la evaluación de fragmentación de EGMs bipolares de FA. Los valores obtenidos de DCGG siempre han sido consistentes con la fragmentación anotada manualmente. El método se ejecuta de forma rápida, es robusto frente a inestabilidades de los registros y ofrece resultados segundo a segundo, por lo que podría incorporarse en dispositivos médicos de asistencia al mapeo cardiaco en procedimientos de ablación por catéter de FA.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos de investigación competitiva DPI2017-83952-C3 de MINECO-AEI-FEDER-UE, SBPLY/17/180501/000411 de la JCCLM y AICO/2019/036 de la GVA.

Referencias

- [1] Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, et al. 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.
- [2] Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M,

Quiniou G, Garrigue S, Le Mouroux A. Spontaneous Initiation of Atrial Fibrillation by Ectopic Beats Originating in the Pulmonary Veins. The New England Journal of Medicine 1998;339(10):659–666.

- [3] Kornej J, Schumacher K, Zeynalova S, Sommer P, Arya A, Weiß M, Piorkowski C, Husser D. Time-dependent prediction of arrhythmia recurrences during long-term follow-up in patients undergoing catheter ablation of atrial fibrillation: The leipzig heart center af ablation registry. Scientific Reports Nature Publisher Group 05 2019;9:1–7.
- [4] Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, Wellens HJ, Penn OC, Allessie MA. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. Circulation 1994; 89(4):1665–1680.
- [5] Verma A, Jiang Cy, Betts TR, Chen J, Deisenhofer I, Mantovan R, Macle L, Morillo Ca. Approaches to Catheter Ablation for Persistent Atrial Fibrillation (STAR AF II). New England Journal of Medicine 2015;372(19):1812–1822.
- [6] Ammar-Busch S, Reents T, Knecht S, Rostock T, Arentz T, Duytschaever M, Neumann T, Cauchemez B. Correlation between atrial fibrillation driver locations and complex fractionated atrial electrograms in patients with persistent atrial fibrillation. PACE Pacing and Clinical Electrophysiology 2018;41(10):1279–1285.
- [7] Lee G, Roberts-Thomson K, Madry A, Spence S, Teh A, Heck PM, Kumar S, Kistler PM. Relationship among complex signals, short cycle length activity, and dominant frequency in patients with long-lasting persistent AF: A highdensity epicardial mapping study in humans. Heart Rhythm 2011;8(11):1714–1719.
- [8] Almeida TP, Chu GS, Salinet JL, Vanheusden FJ, Li X, Tuan JH, Stafford PJ, Ng GA, Schlindwein FS. Minimizing discordances in automated classification of fractionated electrograms in human persistent atrial fibrillation. Medical and Biological Engineering and Computing 2016; 54(11):1695–1706.
- [9] Skinner JE, Molnar M, Vybiral T, Mitra M. Application of chaos theory to biology and medicine. Integr Physiol Behav Sci 1992;27(1):39–53.
- [10] Hoekstra BP, Diks CG, Allessie MA, De Goedb J. Nonlinear Analysis of Epicardial Atrial Electrograms of Electrically Induced Atrial Fibrillation in Man. Journal of Cardiovascular Electrophysiology 1995;6(6):419–440.
- [11] Luca A, Buttu A, Pruvot E, Pascale P, Bisch L, Vesin JM. Nonlinear analysis of right atrial electrograms predicts termination of persistent atrial fibrillation within the left atrium by catheter ablation. Physiological Measurement 2016;37(2):347–359.
- [12] Wells JL, Karp RB, Kouchoukos NT, Maclean WA, James TN, Waldo AL. Characterization of Atrial Fibrillation in Man: Studies Following Open Heart Surgery. Pacing and Clinical Electrophysiology 1978;60(3):426–438.
- [13] Martínez-Iniesta M, Ródenas J, Alcaraz R, Rieta JJ. Waveform Integrity in Atrial Fibrillation: The Forgotten Issue of Cardiac Electrophysiology. Annals of Biomedical Engineering 2017;45(8):1890–1907.
- [14] Takens F. Detecting strange attractors in turbulence. Dynamical systems and Turbulence 1981;898:366–381.
- [15] Corana A, Casaleggio A, Rolando C, Ridella S. Efficient computation of the correlation dimension from a time series on a LIW computer. Parallel Computing 1991;17(6-7):809– 820.
- [16] Theiler J. Statistical precision of dimension estimators. Physical Review A 1990;41(6):3038–3051.
- [17] Křemen V, Lhotská L, MacAš M, Čihák R, Vančura V, Kautzner J, Wichterle D. A new approach to automated assessment of fractionation of endocardial electrograms during atrial fibrillation. Physiological Measurement 2008; 29(12):1371–1381.

Análisis de las componentes tangencial y normal del campo eléctrico en la estimulación transcraneal de la corteza motora

M.A. Callejón-Leblic^{1,2}, P. Franco-Rosado^{1,3}, J. Reina¹, L.M. Roa¹, J.F. Martín-Rodríguez^{3,4}, P. Mir^{3,4}

¹Grupo de Ingeniería Biomédica, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Sevilla, España, {mcallejon,jreina,lroa}@us,es

²Instituto de Biofísica e Ingeniería Biomédica, Facultad de Ciencias, Universidad de Lisboa, Portugal

³Unidad de Trastornos del Movimiento, Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, España

⁴Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED) {jmartin13,pmir}@us.es

Resumen

Los modelos computacionales de campo eléctrico han puesto en duda los criterios clásicos para la colocación de los electrodos en las técnicas de estimulación transcraneal de corriente directa (tDCS). En aparente contradicción con los resultados de los estudios neurofisiológicos, los modelos predicen valores de campo eléctrico similares e incluso de mayor magnitud en zonas entre los electrodos, alejadas de los presuntos targets cerebrales. Como posible explicación, además de la magnitud, la dirección del campo ha sido propuesta como una variable determinante en el efecto de estimulación observado. En este trabajo se realiza un análisis computacional de las componentes tangencial y normal del campo eléctrico para dos sujetos y dos montajes de electrodos alternativos para la estimulación de la corteza motora. Los resultados simulados confirman una marcada distribución anatómica de la componente tangencial y normal sobre los giros y surcos del córtex cerebral, respectivamente. Asimismo, también se discute la prevalencia de una u otra componente en diferentes áreas corticales para los dos montajes simulados.

1. Introducción

Las técnicas tDCS han atraído la atención de un creciente número de investigadores durante las últimas décadas por su capacidad para lograr efectos terapéuticos en el tratamiento de diferentes patologías del sistema nervioso [1], y su aplicación al estudio de la función del cerebro [2]. Éstas consisten en la inyección de una corriente de baja intensidad mediante electrodos colocados en el cuero cabelludo, en posiciones estándares que han dado lugar a resultados de relevancia clínica [3-4].

modelos computacionales electromagnéticos Los aplicados al estudio de la técnica tDCS han demostrado la importancia del efecto de la anatomía individual en la distribución del campo eléctrico sobre el cerebro, poniendo en duda los criterios clásicos para la colocación de los electrodos [5]. En concreto, los modelos predicen una escasa focalidad del campo sobre los presuntos targets, con valores máximos de campo en zonas alejadas de estos [5-6]. Asumiendo que los modelos predicen con razonable precisión la distribución del campo eléctrico sobre la cabeza, como apuntan trabajos recientes con medidas invivo [7-8], la correlación entre la magnitud del campo eléctrico y el efecto de estimulación es motivo de controversia en la literatura y no explica por completo los resultados de los estudios neurofisiológicos [9].

Además de la magnitud, algunos autores han señalado la importancia de la dirección del campo eléctrico sobre los segmentos neuronales que se pretenden estimular [10]. Por ejemplo, en [11-12] los modelos mostraron una distribución dual de las componentes tangencial y normal del campo sobre los giros y surcos de la corteza cerebral, respectivamente. No obstante, aún no se conoce por completo la dependencia de esta distribución cortical con características como la anatomía o la posición de los electrodos. Con el fin de aumentar nuestra comprensión sobre los mecanismos de interacción del campo y sus respectivas componentes sobre los tejidos cerebrales en tDCS, el presente trabajo realiza un análisis computacional de la magnitud y distribución del campo eléctrico y sus respectivas componentes para dos sujetos y dos montajes alternativos para la estimulación de la corteza motora.

2. Material y Métodos

2.1. Modelos anatómicos computacionales

Dos mujeres sanas (25 y 30 años) participaron en este estudio para la adquisición de imágenes MRI estructurales T1 y T2 con un equipo de resonancia magnética de 3T (Ingenia 3 T, Philips Healthcare). El estudio fue aprobado por un Comité de Ética independiente y las dos voluntarias firmaron el consentimiento informado antes de la prueba. Las imágenes fueron segmentadas automáticamente con el software SimNIBS 3.0 (http://simnibs.de/), para la obtención de mallas triangulares en 3D de tejidos como piel, cráneo, cavidades nasales, líquido cefalorraquídeo (CSF), materia gris (GM), materia blanca (WM), cerebelo y ventrículos. Las mallas fueron procesadas con el software Mimics 3-Matic (v16, www.materialise.com) mediante operaciones de suavizado, remallado y corrección de detalles anatómicos. Este software se utilizó también para la generación de las mallas de tetraedros necesarias para el cálculo mediante elementos finitos.

2.2. Montajes de electrodos

En este trabajo se han comparado dos montajes tDCS alternativos para la estimulación de la corteza motora



Figura 1. Montajes de electrodos simulados

izquierda (ver Fig. 1). El primero es el montaje clásico, con ánodo en C3 y cátodo en el área supra-orbital derecha (RSOA). En el segundo montaje, los electrodos fueron colocados a una distancia aproximadamente equidistante al giro precentral, con ánodo en P3 y cátodo en F3, según coordenadas del sistema 10-20. Los electrodos fueron modelados con Mimics 3-Matic en perfecto contacto con la piel. Se consideraron parches rectangulares de área 35 cm² rellenos de un gel conductor de 3 mm de espesor.

2.3. Cálculo mediante elementos finitos

Para la resolución de la física mediante elementos finitos, la malla de tetraedros incluyendo el modelo anatómico de la cabeza junto con los electrodos fue importada al software Comsol Multiphysics (v5.3a, www.comsol.com), usando la interfaz Electric Currents del módulo AC/DC, la cual permite resolver la ecuación de Laplace en condiciones cuasi-estacionarias; considerando la conservación del flujo de corriente normal en las fronteras internas y aislamiento eléctrico en las externas. Para la invección de una corriente constante de 1 mA a través de los electrodos se establecieron condiciones de frontera de potencial flotante. De acuerdo con la literatura [11], se asignaron valores de conductividad a los tejidos: 0.33 S/m para la piel, GM y cerebelo, 0.008 S/m para el cráneo, 1.79 S/m para CSF y ventrículos, 0.15 S/m para WM, 10⁻¹⁴ S/m para las cavidades nasales y 2 S/m para el gel conductor de los electrodos.

2.4. Simulaciones realizadas

A partir de la solución del potencial escalar en cada nodo de la malla obtenida con Comsol, variables como el módulo del campo eléctrico |E|, y sus respectivas componentes tangencial |tE| y normal |nE| fueron calculadas en los diferentes tejidos de la cabeza. A efectos comparativos, se analizó la magnitud y distribución espacial del campo eléctrico y sus componentes para los dos sujetos y montajes propuestos, estimando sus valores medios y máximos en la superficie del córtex cerebral (interfaz GM-CSF).

3. Resultados

3.1. Magnitud y distribución del campo eléctrico

Los valores medios y máximos de campo eléctrico estimados en la superficie de la GM se muestran respectivamente en las Tablas 1 y 2. Para el mismo sujeto, se obtienen valores similares de campo para los dos montajes analizados. Las mayores diferencias se encuentran cuando se comparan los valores máximos para un sujeto y otro: por ejemplo, para la componente tangencial y el montaje C3-RSOA, se obtiene 0.348 y 0.255 V/m, para el sujeto 1 y 2, respectivamente. Estos valores parecen indicar que la magnitud del campo es más sensible a la anatomía cerebral de cada sujeto que al montaje de electrodo.

No obstante, la distribución espacial del campo eléctrico |E| en la superficie de la GM, según los resultados de la Fig. 2a), sí parece ser fuertemente dependiente del montaje de electrodo simulado: contrariamente a lo esperado para el montaje clásico C3-RSOA, el campo |E| se distribuye de forma amplia por la corteza frontal en ambos hemisferios. Por el contrario, en el caso del montaje alternativo P3-F3, el campo |E| queda principalmente confinado en el hemisferio izquierdo, mostrando valores máximos en el presunto target, la corteza motora. La explicación es la posición relativa y menor distancia entre los electrodos para este segundo montaje, favoreciendo que las líneas de campo queden confinadas en la zona intermedia a estos. En conclusión, los resultados simulados para los dos sujetos considerados en este trabajo indican que el montaje alternativo P3-F3 parece ser más adecuado, en términos de focalidad del campo eléctrico |E| en la presunta zona objetivo, la corteza motora izquierda, frente al montaje clásico C3-RSOA.

	Sujeto 1		Sujeto 2	
	C3-RSOA	P3-F3	C3-RSOA	P3-F3
$ \mathbf{E} $	0.106	0.101	0.098	0.092
tE	0.072	0.069	0.068	0.063
nE	0.055	0.054	0.050	0.048

14	Tabla 1. Valores mealos de campo elecífico (V/m)				
	Sujeto 1		Sujeto 2		
	C3-RSOA	P3-F3	C3-RSOA	P3-F3	
E	0.502	0.477	0.381	0.384	
tE	0.348	0.350	0.255	0.301	
nE	0.478	0.451	0.367	0.369	

Tabla 2.	Valores	máximos de	campo	eléctrico	(V/m)	
----------	---------	------------	-------	-----------	-------	--



Figura 2. Magnitud y distribución del campo eléctrico en la superficie de la GM para los dos sujetos y montajes analizados. A efectos comparativos, los resultados han sido normalizados por los respectivos valores máximos mostrados en la Tabla 2. Respectivamente en cada fila: a) módulo del campo eléctrico b) componente tangencial y c) componente normal

3.2. Componentes tangencial y normal

Sin embargo, además de la magnitud y distribución del campo eléctrico |E|, algunos autores han señalado la importancia de la dirección y orientación del campo eléctrico sobre la población neural que se pretende estimular. Por esta razón, en este trabajo se analizan también las componentes tangencial, |tE|, y normal, |nE|, del campo. En primer lugar, los resultados de las Fig. 2b) y 2c) confirman una tendencia en la que se aprecia una componente tangencial ampliamente distribuida en los giros del córtex frente a una componente normal mayormente confinada en los surcos. Los valores medios y máximos estimados en las Tablas 1 y 2 confirman a su vez esta tendencia. Así, los valores medios de |tE| son siempre mayores que los de |nE| para los dos montajes y sujetos analizados, indicando una distribución más amplia por un mayor número de zonas de la superficie de la GM. Al mismo tiempo, |nE| siempre presenta los valores medios más bajos y los valores máximos más altos, indicativo de su mayor intensidad y focalidad en zonas profundas de los surcos.

En segundo lugar, además de esta marcada dependencia anatómica, los resultados de este trabajo demuestran que la

posición de los electrodos en cada uno de los montajes analizados determina la prevalencia de una u otra componente de campo eléctrico en la presunta zona objetivo, en este caso, la corteza motora izquierda. Esto puede verse en la Fig. 3, que muestra la magnitud y dirección del campo eléctrico en un corte transversal de la GM para el sujeto 2 en ambos montajes. Los resultados para el sujeto 1 exhiben una tendencia similar y por motivos de espacio no se muestran en este trabajo. Así, para el montaje clásico C3-RSOA, las zonas intermedias entre los electrodos, correspondientes a zonas prefrontales, presentaron un mayor valor de magnitud del campo, en dirección predominantemente tangencial a estas. En el caso de la presunta zona objetivo, el giro precentral presenta menor magnitud y orientación predominantemente normal. Lo opuesto ocurre en el montaje P3-F3 en el que el giro precentral presenta un valor máximo de magnitud, pero con orientación del campo principalmente tangencial.

En resumen, además de una distribución anatómica dual de de |tE| y |nE| sobre los giros y surcos de la GM, respectivamente, se han estimado diferentes valores máximos en la presunta zona objetivo para los dos montajes de electrodos propuestos. Así, se observan valores máximos de campo eléctrico en la corteza prefrontal para C3-RSOA, con dirección



Figura 3. Módulo y dirección del campo eléctrico |E| en un corte transversal de la GM para el sujeto 2 y los dos montajes analizados. El valor ha sido normalizado por el valor máximo obtenido para dicho sujeto en cada montaje

predominantemente tangencial a su superficie. En el giro precentral, supuesta región de interés de este montaje, los valores de campo son menores pero se distribuyen con dirección normal al mismo. Para P3-F3, se obtiene un máximo de campo eléctrico en el giro precentral entre ambos electrodos, en este caso predominantemente tangencial. Las implicaciones de la prevalencia de una componente u otra sobre las distintas áreas del cerebro en los dos montajes seleccionados, tal y como se discute a continuación, puede arrojar luz sobre la controversia actual y ayudar a avanzar en el conocimiento de los mecanismos subyacentes al proceso de estimulación neural.

4. Discusión y conclusión

En este estudio se ha demostrado que la magnitud y distribución del campo eléctrico en la GM es dependiente de la anatomía y montaje de electrodos utilizado [6],[13]. Asimismo, los resultados simulados demuestran una fuerte distribución anatómica de |tE| y |nE| en los giros y surcos de la corteza cerebral, respectivamente, para los dos sujetos y montajes analizados, corroborando resultados previos en [11-12]. Una explicación para esta marcada dependencia anatómica es el delgado espesor y la alta conductividad del CSF. Cuando la corriente llega al CSF en su camino entre los dos electrodos a través de los tejidos de la cabeza, los iones son conducidos por esta fina capa conductora, de forma tangencial en las zonas más estrechas, los giros, y de forma normal o perpendicular en las zonas más profundas, los surcos, estimulando con este patrón el tejido inmediatamente inferior, la superficie de la GM.

Surge por tanto la pregunta de si el efecto dispersor del CSF sobre las respectivas componentes de campo en los giros y surcos de la corteza cerebral es el causante de la baja especificidad reportada en tDCS, o si, por el contrario, esta distribución dual puede tener implicaciones en la estimulación de unos segmentos neuronales sobre otros. Contradictoriamente, la comparación de los dos montajes propuestos en este trabajo demuestra que el montaje clásico C3-RSOA, para el cual los estudios neurofisiológicos han reportado un mayor efecto de estimulación [14], da lugar a un máximo de campo eléctrico tangencial en el giro pre-frontal, lejos del presunto *target*, frente al valor máximo encontrado en el

giro precentral para el montaje alternativo P3-F3. Como trabajo futuro, el uso de modelos computacionales y su validación mediante estudios neurofisiológicos con un mayor número de sujetos podría arrojar luz sobre esta cuestión con grandes implicaciones clínicas.

Agradecimientos

Agradecer al Profesor Pedro C. Miranda y a la investigadora Sofía Rita Fernandes del Instituto de Biofísica e Ingeniería Biomédica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Lisboa por sus comentarios y ayuda con el software Mimics 3-Matic.

Referencias

- Yavari F, et al. Basic and functional effects of transcranial Electrical Stimulation (tES) — An introduction. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, vol 85, 2018, pp 81-92 (ISSN: 0149-7634).
- [2] Filmer HL, Dux PE, Mattingley JB. Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function. *Trends Neurosci.*, vol 37, no 12, 2014, pp 742-53 (ISSN: 0166-2236).
- [3] Truong DQ, Bikson M. Physics of transcranial direct current stimulation devices and their history. *Journal of ECT*, vol 34, no 3, 2018, pp 137-43 (ISSN: 1095-0680).
- [4] Klooster DCW, et al. Technical aspects of neurostimulation: Focus on equipment, electric field modeling, and stimulation protocols. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, vol 65, 2016, pp 113-41 (ISSN: 0149-7634).
- [5] Miranda PC, Callejón-Leblic MA, Salvador R, Ruffini G. Realistic modeling of transcranial current stimulation: The electric field in the brain. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, vol 8, 2018, pp 20-7 (ISSN: 2468-4511).
- [6] Rampersad SM, et al. Simulating transcranial direct current stimulation with a detailed anisotropic human head model. *IEEE Trans. Neural Systems Rehabilitation Engineering*, vol 22, no 3, 2014, pp 441-52 (ISSN: 1534-4320).
- [7] Huang Y, et al. Measurements and models of electric fields in the in vivo human brain during transcranial electric stimulation. eLife, vol 6, 2017, pp 1-26 (ISSN: 2050-084X).
- [8] Opitz A, *et al.* Spatiotemporal structure of intracranial electric fields induced by transcranial electric stimulation in humans and nonhuman primates. *Sci Rep*, vol 6, no 31236, 2016, pp 1-11 (ISSN 2045-2322).
- [9] Polania R, Nitsche MA, Ruff CC. Studying and modifying brain function with non-invasive brain stimulation. *Nat Neurosci*, vol 21, no 2, 2018, pp 174-87 (ISSN 1546-1726).
- [10] Seo H, Jun SC. Relation between the electric field and activation of cortical neurons in transcranial electrical stimulation. *Brain Stimulation*, vol 12, no 2, 2019 (ISSN: 1935-861X).
- [11] Miranda PC, Mekonnen A, Salvador R, Ruffini G. The electric field in the cortex during transcranial current stimulation. *Neuroimage*, vol 70, 2013, pp 48-58 (ISSN: 1053-8119).
- [12] Callejón-Leblic MA, Miranda PC. A computational analysis of the electric field components in transcranial direct current stimulation. Proc. 41st IEEE Int. Conf. Engineering in Medicine and Biology Soc. (EMBC 2019), Berlin, 2019, pp 1-5.
- [13] Laakso I, et al. Electric fields of motor and frontal tDCS in a standard brain space: a computer simulation study. *Neuroimage*, vol 137, 2016, pp 140-51 (ISSN: 1053-8119).
- [14] Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *Journal of Physiology-London*, vol 527, 2000, pp 633-639 (ISSN: 1469-7793).

Volumetric DCE-MRI Phantom for Liver Perfusion Analysis

R. M. Menchón-Lara¹, M. Martín-Fernández¹ and C. Alberola-López¹

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen, Universidad de Valladolid, Valladolid, España,

 $rmenchon@lpi.tel.uva.es, \{marcos.martin, caralb\}@tel.uva.es$

Abstract

This work describes a procedure to generate realistic 4D liver perfusion phantoms. The proposed simulator is based on the extended cardiac-torso (XCAT) anatomical model to create synthetic dynamic contrast enhanced magnetic resonance images (DCE-MRI). This image modality allows for the analysis of signal intensity changes due to the passing of a contrast medium. Therefore, DCE-MRI is useful to detect microcirculatory alterations in the liver parenchyma or focal lesions. Thus, liver DCE-MRI along with kinetic modelling are used for quantitative characterization of hepatic perfusion and creation of perfusion parameter maps.

1. Introduction

MRI plays an important role in the evaluation of diffuse and focal liver diseases [1]. Specifically, DCE-MRI with kinetic modelling is used for the quantitative characterization of hepatic perfusion.

In order to detect microcirculatory alterations in the liver and make diagnosis possible, spatio-temporal resolution of images as well as volume coverage should be sufficient. However, physiological motion of surrounding organs and patient breathing, hinders the achievement of spatiotemporal resolution requirements. Therefore, research efforts have been targeted in developing fast and efficient methodologies for the acquisition and reconstruction of dynamic images based on aggressive k-space subsampling, typically combined with parallel imaging (PI) procedures [2-4]. Another research line is the direct reconstruction of perfusion parameter maps. This has been proposed for brain DCE [5,6], but it has not been tested in the liver case.

It is worth mentioning that, in the context of medical imaging research, lack of adequate real data is a recurrent issue. In addition, determination of the *ground-truth* is not always possible. Therefore, simulators can be useful for the development and validation of new processing techniques. With this aim in mind, this work proposes a realistic liver perfusion MR simulator.

2. MRI for perfusion

DCE imaging is a MRI modality that allows the practitioner to observe, analyse and quantify signal intensity changes due to the uptake and washout of a contrast agent, usually gadolinium contrast medium (Gd-DTPA). As commented above, in order to track the hepatic perfusion reliably, DCE-MRI requires a good balance between anatomic coverage, spatial resolution, and sufficient temporal resolution.

Liver perfusion imaging is typically performed by means of T1-weighted MRI sequences, in particular, 3D spoiled gradient echo (GRE) sequence [7]. A volumetric acquisition is preferable because of the entire liver coverage and its better signal-to-noise ratio [1]. PI is applied to reduce the total acquisition time and to improve temporal resolution of images. Furthermore, in practice, a T1 mapping is required for quantitative analysis of the liver perfusion [7].

The coronal image plane (or oblique coronal) is helpful to minimize the inflow artifacts and ensure that aorta and portal vein are included in the same sections [1, 7]. This image orientation facilitates the evaluation of signal intensity variations in these structures. Therefore, it allows for the estimation of arterial and vein contrast agent inputs to the liver, which are necessary to extract the perfusion parameter maps.

As an example, Table 1 shows illustrative values of acquisition parameters in a commercial scanner for a liver DCE-MRI protocol.

Parameter	Values
TR	1.7–3.2 ms
TE	0.8 ms
Flip angle	9°-14°
Voxel sizes	$3.3\times2.1\times3.0\ mm^3$
Slice thickness	3 mm
Temporal resolution	< 3 s
Acquisition time	3–5 minutes
Gd-DTPA dose	0.2 mMol/kg at 3–5 mL/s with 20 mL of saline flush

 Table 1. Example of acquisition parameters for liver DCE-MRI using a 3D-spoiled gradient echo sequence in 1.5 T system (Avanto, Siemens) [1,7]

The major source of quality degradation in liver perfusion MRI is the motion during acquisition, mainly due to respiration. To minimize the undesirable effects of respiratory motion, acquisition in sequential breath-hold is a commonly used solution, although inefficient in terms of scan time and temporal resolution. Other protocols allow for the continuous acquisition during quiet respiration or free-breathing at the expense of a greater cost in the image reconstruction process, since some registration technique is needed to align the images prior to quantitative analysis.

3. Hepatic perfusion model

Liver is a special organ because of its dual blood supply. About 75% of the blood is provided by the portal vein and the remaining 25% by the hepatic artery [1]. According to this, hepatic perfusion comprises two stages: arterial and portal phases. For the perfusion quantification, a dual-input single compartment kinetic model (see Fig. 1) is commonly considered [7].



Figure 1. Dual-input single compartment kinetic model for liver perfusion processing

The general equation for the contrast agent concentration in the liver, $C_l(t)$, according to the dual-input kinetic model shown in Fig. 1 is the following:

$$C_{l}(t) = \int_{0}^{t} \left[k_{a} C_{a}(\tau - t_{a}) + k_{p} C_{p}(\tau - t_{p}) \right] e^{-k_{2}(t-\tau)} d\tau, \qquad (1)$$

where C_a and C_p stand for the contrast concentration in the hepatic artery (arterial input function, AIF) and in portal vein (vein input function, VIF); t_a and t_p represent the transit times of the contrast agent from the hepatic artery and portal vein to the liver parenchyma; k_a , k_p and k_2 are transfer constants from the hepatic artery to the liver, from portal vein to the liver, and from the liver to hepatic vein, respectively. The distribution volume of the contrast agent is defined as $DV(\%) = 100 \cdot (k_a + k_p)/2$. Other parameters of interest are: the mean transit time ($MTT = 1/k_2$), arterial and portal flow, and arterial and portal fraction of total flow [1, 7].

Note that, in practice, the proximal abdominal aorta is used as a surrogate for the hepatic artery in the evaluation of the AIF. Moreover, it is possible to use a population-averaged approximation for the AIF [8].

Figure 2 shows typical concentration-time curves for the regions of interest: hepatic artery (AIF), portal vein (VIF) and liver parenchyma. Table 2 shows normal and abnormal (pathological) values of the perfusion parameters [9].

Perfusion parameter	Normal	Abnormal
k _a (ml/100g/min)	20	30
k_p (ml/100g/min)	100	50
k ₂ (ml/100g/min)	450	400
t_a (s)	0-1	0-6
t_p (s)	0-2	0-6

 Table 2. Typical hepatic perfusion parameters for healthy and pathological subjects [9]



Figure 2. Contrast concentration-time curves of hepatic artery (AIF), portal vein and liver parenchyma according to the dualinput single compartment kinetic model

4. Anatomical model

The phantom generated in this work is based on the model provided by XCAT [10]. This software allows generation of realistic human anatomical masks. Moreover, the XCAT model is dynamic, including cardiac contraction and respiratory motion. In [11], XCAT model is applied to cardiac MRI, in particular, to cine and myocardial perfusion implementations. In this work, it is extended to abdominal DCE-MRI for hepatic perfusion analysis.

XCAT produces binary masks of different organs and tissue types and returns *.bin* files. Therefore, we obtain a labels map for each frame.

Figure 3 shows the XCAT anatomical model for the abdominal region used as basis of the simulated DCE-MRI phantom.



Figure 3. Anatomical model of the abdominal region obtained from XCAT software

5. DCE-MRI phantom simulator

Figure 4 shows the procedure used in this work to generate a computerized 4D DCE-MRI abdominal phantom for hepatic perfusion analysis.

First step is creation of the required anatomical model with labelled regions (tissues/organs, see Fig. 3). A set of variables must be defined in the XCAT parameters file to define the model, such us spatial resolution, model size, total number of frames (*N*) and temporal resolution of the images (Δ_t). Moreover, it is possible to modify the cardiac and respiratory motion pattern for the dynamic model or include spherical lesions.



Figure 4. Overview of the procedure to simulate the DCE-MRI liver phantom

In this work, a set of real perfusion MR images of the liver have been used to estimate the Gd concentration-time curves for the following tissues: aorta, portal vein, liver, stomach, spleen, pancreas and kidney.

Once anatomical model is obtained, in each frame (time instant, *n*), for each tissue of interest (*x*), the Gd concentration is extracted from the predefined concentration-time curve of the corresponding tissue/organ $(C_x(n), \text{ with } n = \Delta_t \cdot 0, ..., N)$. Then, as described in [12] for 2D cardiac DCE-MRI simulation, it is possible to create the T1 maps from the concentration, according to the following expression:

$$\frac{1}{T_{1,x}(n)} = \frac{1}{T_{10,x}} + C_x(n) \cdot r$$
(2)

where T_{10} is the T_1 relaxation time before contrast injection and r represents the contrast agent relaxivity.

Finally, the intensities of each image frame are simulated using the signal equation of the spoiled-GRE sequence:

$$I_{x}(n) = M_{0,x} \sin \alpha \frac{1 - \exp(-TR/T_{1,x}(n))}{1 - \cos \alpha \cdot \exp(-TR/T_{1,x}(n))}$$
(3)

6. Simulation results

Following the procedure detailed in Sect. 5, a DCE-MRI liver phantom has been generated. The concentration-time curves estimated from real images for different tissues can be seen in Fig. 5. Table 3 includes the values of T_{10} and proton density used for MR signal simulation [13]. As for the simulated MR acquisition parameters, repetition time (TR) is 4.2 ms and flip angle (α) is 12°. A contrast agent relaxivity of 4.5 l/mMol/s is assumed.

Figures 6-8 show different axial slices of the simulated DCE-MRI phantom and real images for comparison. In each case, pre-contrast images, arterial phase and portal phase of hepatic perfusion are shown.



Figure 5. Contrast concentration-time curves estimated from real perfusion MR images

$M_0(\%)$	$T_{10}(ms)$
90	809
80	1420
80	1328
80	725
70	1142
80	1545
	M ₀ (%) 90 80 80 80 80 80 80 80 80 80

Table 3. M_0 and T_{10} [13] used to simulate the DCE-MR signal at different regions of the abdominal phantom

7. Conclusions

A realistic abdominal perfusion MR simulator has been presented. The generated 4D phantom properly reflects the hepatic perfusion process. Moreover, it is a dynamic phantom including respiratory and cardiac deformations. Simulation of perfusion defects in liver parenchyma is possible by modifying the model parameters. Therefore, this computerized model is useful for hepatic perfusion analysis as well as research in efficient DCE-MRI acquisition and reconstruction protocols handling the undesirable motion effects.

Acknowledgements

This work is partially supported by the Spanish '*Ministerio de Economía, Industria y Competitividad*' under grant TEC2017-82408-R.



Figure 6. Generated DCE-MRI phantom and real perfusion MRI. Axial view of pre-contrast, arterial and portal phases of hepatic perfusion



Figure 7. Generated DCE-MRI phantom and real perfusion MRI. Axial view of pre-contrast, arterial and portal phases of hepatic perfusion



Figure 8. Generated DCE-MRI phantom and real perfusion MRI. Axial view of pre-contrast, arterial and portal phases of hepatic perfusion

References

- Do RKG, Rusinek H, Taouli B. Dynamic contrast-enhanced MR imaging of the liver: current status and future directions. *Magn Reson Imaging Clin N Am*, vol 17, no 2, 2009, pp 339-349 (doi: 10.1016/j.mric.2009.01.009).
- [2] Chandarana H, et al. Respiratory motion-resolved compressed sensing reconstruction of free-breathing radial acquisition for dynamic liver MRI. *Invest Radiol.*, vol 50, no 11, 2015, pp 749-756.
- [3] Feng L, et al. XD-GRASP: golden-angle radial MRI with reconstruction of extra motion-state dimensions using compressed sensing. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 75, 2016, pp 775-788 (doi: 10.1002/mrm.25665).
- [4] Johanson A, Balter J, and Cao Y. Rigid-body motion correction of the liver in image reconstruction for goldenangle stack-of-stars DCE MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 79, no 3, 2018, pp 1345-1353 (doi: 10.1002/mrm.26782).
- [5] Guo Y, Lingala SG, Zhu Y, Lebel RM, Nayak KS. Direct estimation of tracer-kinetic parameter maps from highly undersampled brain dynamic contrast enhanced MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 78, no 4, 2017, pp 1566-1578 (doi: 10.1002/mrm.26540).
- [6] Guo Y, Lingala SG, Bliesener Y, Lebel RM, Zhu Y, Nayak KS. Joint arterial input function and tracer kinetic parameter estimation from undersampled dynamic contrast-enhanced MRI using a model consistency constraint. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 79, no 5, 2018, pp 2804-2815 (doi: 10.1002/mrm.26904).
- [7] Thng CH, Koh TS, Collins DJ, Koh DM. Perfusion magnetic resonance imaging of the liver. *World J Gastroenterol*, vol 16, no 13, 2010, pp 1598-1609 (doi: 10.3748/wjg.v16.i13.1598).
- [8] Parker GJM, et al. Experimentally-derived functional form for a population-averaged high-temporal-resolution arterial input function for dynamic contrast-enhanced MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 56, no 5, 2018, pp 993-1000 (doi: 10.1002/mrm.21066).
- [9] Cao Y, Alspaugh J, Shen Z, Balter JM, Lawrence TS, Haken RKT. A practical approach for quantitative estimates of voxel-by-voxel liver perfusion using DCE imaging and a compartmental model. *Medical Physics*, vol 33, no 8, 2006, pp 3057-3062 (doi: 10.1118/1.2219773).
- [10] Segars WP, Sturgeon G, Mendonca S, Grimes J, Tsui BMW.
 4D XCAT phantom for multimodality imaging research. *Medical Physics*, vol 37, no 9, 2010, pp 4902-4915 (doi: 10.1118/1.3480985).
- [11] Wissmann L, Santelli C, Segars WP, Kozerke S. MRXCAT: Realistic numerical phantoms for cardiovascular magnetic resonance. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, vol 16, art 63, 2014, pp 1-11 (doi: 10.1186/s12968-014-0063-3).
- [12] Aja-Fernández S, Cordero-Grande L, Alberola-López C. A MRI phantom for cardiac perfusion simulation. In: 9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), Barcelona, 2012, pp 638-641 (doi: 10.1109/ISBI.2012.6235629)
- [13] Bojorquez, JZ, Bricq S, Acquitter C, Brunotte F, Walker PM, Lalande A. What are normal relaxation times of tissues at 3 T? *Magneit Resonance Imaging*, vol 35, 2017, pp 69-80 (doi: 10.1016/j.mri.2016.08.021).

Estudio de fantomas para simulación clínica ecogénica de órganos del cuerpo humano

M. García González^{1,2}, J. Pedraja Vidal², I. del Moral Vicente-Mazariegos², J. L. Arce Diego¹, F. Fanjul Vélez¹

¹ Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, <u>fanjulf@unican.es</u>, <u>arcedj@unican.es</u>

² Hospital Virtual Valdecilla S. L., Avenida Marqués de Valdecilla s/n, 39008 Santander (Cantabria), España

Resumen

Un fantoma ultrasónico es un material que emula un tejido biológico de forma anatómicamente realista, con la finalidad de actuar como herramienta de formación clínica para la toma de imágenes por ultrasonido. Los fantomas comerciales convencionales representan una gama muy limitada de estructuras de tejido y pueden tener imperfecciones anatómica y sus elevados costos impiden el uso rutinario como herramienta de formación. Con el advenimiento de la impresión 3D, hay una amplia gama de nuevos métodos para crear fantomas de ultrasonido baratos y personalizados. Por un lado, estas impresoras pueden crear estructuras poliméricas que representen estructuras altamente hiperecoicas de tejido duro como la columna vertebral. Por el otro, también pueden crear moldes especializados con los que fabricar estructuras invertidas de tejidos blandos como los vasos sanguíneos sin pared, el riñón y el corazón para después rellenar con materiales imitadores de tejidos. Uno de los factores limitantes para crear fantomas de imágenes de ultrasonido utilizando la impresión 3D ha sido la escasez de materiales imitadores de tejidos adecuados. El objetivo de este trabajo es desarrollar un fantoma ultrasónico prostático destinado a la simulación clínica ecogénica de una próstata humana. En él se detallan las propiedades ultrasónicas de interés para la ecografía médica y se explican diferentes materiales y métodos útiles para diseñar, crear y evaluar el fantoma.

1. Introducción

Un fantoma ultrasónico es un material que emula un tejido biológico de forma anatómicamente realista, con la finalidad de actuar como herramientas de formación clínica para la toma de imágenes por ultrasonido. Los fantomas comerciales convencionales representan una gama muy limitada de estructuras de tejido y pueden tener imperfecciones anatómicas. Además, sus elevados costos impiden el uso rutinario como herramientas de formación. Con el advenimiento de la impresión 3D, tenemos a nuestra disposición una amplia gama de nuevos métodos fantomas de ultrasonido baratos para crear v personalizados. Por un lado, con estas impresoras podemos crear estructuras poliméricas que representen estructuras altamente hiperecoicas de tejido duro como la columna vertebral. Por el otro, también podemos crear moldes especializados con los que crear estructuras invertidas de tejidos blandos como los vasos sanguíneos sin pared, el riñón y el corazón para después rellenar con materiales imitadores de tejidos. En este trabajo se presenta un estudio para el desarrollo de fantomas para simulación clínica ecogénica de órganos del cuerpo humano y su aplicación al diseño, desarrollo y caracterización de un fantoma de próstata. En la Sección 2 se introducen los métodos fundamentales para la caracterización de medios materiales mediante ultrasonidos; en la Sección 3 se analizan las propiedades de los materiales ecogénicos disponibles en el mercado; en la Sección 4 se presenta el procedimiento seguido para la elaboración de un primer prototipo de fantoma de próstata así como la discusión de los resultados obtenidos y las conclusiones.

2. Caracterización de materiales mediante ultrasonidos

El ultrasonido de diagnóstico médico utiliza la energía del ultrasonido y las propiedades acústicas del cuerpo para producir una imagen de tejidos estacionarios y móviles. Las imágenes de ultrasonido utilizan la técnica de "pulsos de eco" para sintetizar una imagen tomográfica en escala de grises de los tejidos basada en la iteración mecánica de pulsos cortos de ondas acústicas de alta frecuencia y sus ecos. A lo largo de una trayectoria de haz dada, la profundidad de una estructura que produce eco está determinada por el tiempo entre la emisión del pulso y el retorno del eco, y la amplitud del eco está codificada como un valor en la escala de grises [1].

2.1. Características de los ultrasonidos

El ultrasonido representa el rango de frecuencia por encima de los 20 kHz. El ultrasonido médico utiliza frecuencias en el rango de 2 a 10 MHz, con aplicaciones especializadas de hasta 50 MHz. Las máquinas de ultrasonido médico asumen una velocidad de sonido de 1540 m/seg. Un cambio en la velocidad en una interfaz entre dos medios provoca un cambio en la longitud de onda. La longitud de onda del ultrasonido determina la resolución espacial alcanzable a lo largo de la dirección del haz. El ultrasonido de baja frecuencia tiene una longitud de onda más larga y menos resolución, pero una mayor profundidad de penetración. Así, las frecuencias de ultrasonido seleccionadas estarán determinadas por la aplicación.

2.2. Interacciones de los ultrasonidos con la materia

Las interacciones del ultrasonido con la materia están determinadas por sus propiedades acústicas. A medida que la energía del ultrasonido se propaga a través de un medio, aparecen la reflexión, la refracción, el *scattering* y la absorción. La reflexión se produce en los límites del tejido donde hay una diferencia en la impedancia acústica de los materiales advacentes. Cuando el haz incidente es perpendicular al límite, una parte del haz (un eco) vuelve directamente a la fuente, y la parte transmitida del haz continúa en la dirección inicial. La refracción describe el cambio en la dirección de la energía de ultrasonido transmitida con incidencia no perpendicular. El scattering (dispersión) se produce generalmente por pequeñas partículas dentro del tejido, que hacen que el haz se difunda en muchas direcciones (Figura 1), dando lugar a la textura característica y la escala de grises en la imagen acústica. La absorción es el proceso mediante el cual la energía acústica se convierte en energía térmica, de manera que se pierde y no se puede recuperar. La pérdida de intensidad del haz de ultrasonido por la absorción y el scattering en el medio provoca una atenuación de la imagen [2].



Figura 1. Interacciones ultrasónicas con límites y partículas.

Además, se define la impedancia acústica (Z) de un material como el producto de su densidad, ρ , y la velocidad del sonido, c. De manera simplista, la impedancia acústica puede compararse con la rigidez y flexibilidad de un medio compresible. Una gran diferencia en la rigidez da como resultado una gran energía reflejada; en cambio, las pequeñas diferencias en la rigidez o la compresibilidad permiten la propagación continua de la energía, con poca reflexión en la interfase.

2.3. Caracterización acústica de materiales

La velocidad del sonido, c, se determina típicamente mediante mediciones de tiempo de vuelo a través de un material de un espesor determinado, y la impedancia acústica característica se calcula, a partir del producto de la velocidad del sonido y la densidad medida, p, de un material. El coeficiente de atenuación, α , se puede medir mediante técnicas de transmisión, especialmente para líquidos y materiales de baja atenuación. Las técnicas reflexivas pueden ser más apropiadas para las mediciones de atenuación en alta frecuencia y para sólidos densos con alta atenuación. El coeficiente de backscattering (retrodispersión), µ, una medida de la dispersión diferencial de una sección transversal por unidad de volumen, se puede medir comparando las imágenes del modo B entre fantomas o con materiales de referencia. El parámetro de no linealidad, es una medida del grado en que la densidad en un material cambia en respuesta a los cambios en la amplitud de la presión. Los efectos no lineales son típicamente pequeños y por lo tanto difíciles de determinar usando técnicas convencionales. El módulo de Young, es una medida de la rigidez en condiciones isotrópicas que es crítica cuando se desean obtener imágenes de elasticidad. También es importante la

longevidad, o el periodo de tiempo durante el cual las propiedades acústicas y mecánicas son estables y consistentes.

3. Materiales ecogénicos

Los sustitutos de tejido utilizados en la ecografía deben poseer propiedades acústicas cercanas a las de los tejidos de interés, siendo las propiedades acústicas más críticas de los tejidos blandos la velocidad de compresión del sonido, la impedancia acústica característica, la atenuación, el coeficiente de retrodispersión y el parámetro de no linealidad. Las propiedades acústicas más relevantes para los tejidos duros incluyen las velocidades de compresión y de onda de corte del sonido, la impedancia acústica característica y la atenuación [3].

3.1. Materiales imitadores de tejidos biológicos blandos

Los tejidos biológicos blandos están compuestos por músculos, tendones, ligamentos, fascia, grasa, tejido fibroso, membranas sinoviales, nervios y vasos sanguíneos. Muchos sustitutos de tejido se fabrican utilizando técnicas desarrolladas para tejidos blandos generales y posteriormente se modifican para imitar mejor las propiedades específicas del tejido. Hasta la fecha se han modelado una amplia gama de tejidos blandos, en líquido, forma sólida o gel. Los materiales imitadores de tejido más comunes utilizados en la fabricación de fantomas de órganos sólidos han sido los basados en agarosa, gelatina y PVA, con una mezcla de agua y glicerina como el sustituto de la sangre más común.

3.2. Materiales imitadores de tejidos biológicos duros

Los tejidos biológicos duros son tejidos mineralizados con una sustancia intercelular firme e incluyen el hueso cortical, el hueso trabecular, el esmalte dental y la dentina. Los sustitutos óseos corticales se han hecho utilizando epoxi, polímeros y compuestos de polímeros, con propiedades acústicas que caen dentro del amplio rango de valores reportados. El hueso trabecular es difícil de modelar por su estructura tortuosa y heterogeneidad.

4. Fantomas para Ultrasonidos

En esta sección, revisaremos los trabajos realizados con el fin de diseñar de forma adecuada un fantoma ecogénico prostático (ver Figura 2).



Figura 2. Fantoma ecogénico prostático.

Inicialmente, comentaremos en qué consiste la glándula prostática que queremos simular y, a continuación, dos posibles métodos de producción del fantoma que procuraremos llevar a cabo.

4.1. Próstata

La próstata es un conjunto de 30 a 50 glándulas tubuloalveolares ramificadas. Sus conductos desembocan en la porción de la uretra que cruza la próstata, denominada uretra prostática. La uretra tiene tres zonas diferenciadas: la zona central ocupa el 25% del volumen de la glándula y el 70% de la glándula está formado por la zona periférica, que es la principal localización del cáncer de próstata. La zona de transición tiene una gran importancia médica, porque es el lugar donde se origina la mayor parte de las hiperplasias prostáticas benignas (Figura 3).



Figura 3. Corte transversal de la próstata.

Las glándulas tubuloalveolares están formadas por un epitelio cuboide o seudoestratificado columnar. Las glándulas están rodeadas por un estroma fibromuscular. La próstata está rodeada por una cápsula fibroelástica rica en músculo liso. Los tabiques de esta cápsula penetran en la glándula y la dividen en lóbulos. Las glándulas producen una secreción y la almacenan para expulsarla durante la eyaculación. La estructura y la función de la próstata están reguladas por la testosterona [4].

4.2. Fantoma de cera de gel con aditivos

En esta subsección se describirán métodos para crear fantomas de ultrasonido anatómicamente realistas utilizando un material suave llamado **cera de gel**. Para recrear propiedades de tejido acústicamente realistas, se consideran dos aditivos para la cera de gel: **cera de parafina** para aumentar la atenuación acústica y **esferas de vidrio sólidas** (0-63 µm de diámetro nominal) para aumentar la retrodispersión acústica [5].

La metodología de este estudio tiene cuatro componentes. En primer lugar, se mide el módulo Young de cera nativa de gel. En segundo lugar, se investiga cómo se pueden utilizar los aditivos para afinar la atenuación acústica y la retrodispersión de la cera de gel. Tercero, se diseñan los moldes para la cera del gel, que se fabrican con la impresión 3D. Finalmente, se crean los fantomas, y se validan con un escáner de imágenes de ultrasonido clínico.

Para determinar el módulo de Young de la cera nativa de gel se realiza una prueba de compresión uniaxial. El

módulo de Young se calcula aplicando los mínimos cuadrados de ajuste lineal a la pendiente de la curva de tensión-deformación de 0 a 40% de deformación.

Para fabricar las mezclas de muestra, la cera de gel se funde en un vaso de vidrio con una placa calefactora. Las esferas de vidrio y/o la cera de parafina se añaden gradualmente durante la agitación mecánica hasta que la solución sea visualmente homogénea. Posteriormente, la solución se recalienta y desgasifica hasta que las burbujas de aire estén ausentes con la inspección visual.

Después, se diseña el molde del fantoma y se imprime en 3D (impresora Ultimaker 2 Plus) con material de Poly Lidid Acid (PLA). El molde se reviste con una capa delgada de aceite para facilitar la eliminación del material de cera del gel enfriado. Se vierte el material de cera de gel fundido en el interior del molde. Finalmente, se permite al fantoma solidificarse a temperatura ambiente y se retira el molde.

La proyección de imagen del ultrasonido de los fantomas se realiza con un escáner clínico utilizando una sonda de imágenes de matriz lineal con un ancho de banda nominal de 5–14 MHz.

4.3. Fantoma antropomorfo de la próstata

En esta subsección se desarrollan materiales que imitan a tres tejidos blandos humanos para su uso en un fantoma antropomórfico de la región de la próstata: parénquima prostático, músculo esquelético y tejido adiposo (grasa).

Los materiales que simulan la próstata y los músculos contienen leche condensada para el control de la atenuación acústica, dispersores de perlas de vidrio de $45-53 \mu m$ de diámetro para el control de la retrodispersión acústica, agarosa, agua destilada desionizada a 18 M Ω , alcohol n-propílico, sal de CuCl₂, EDTA (agente quelante), y timerosal (conservante). La grasa se imitó adecuadamente con aceite de cártamo puro y una malla de poliuretano [6].

El proceso de hacer 1 litro de material imitador de la próstata es el siguiente. Primero, se disuelven 2 g de timerosal en 1 litro de leche entera condensada mediante ultrafiltración y la solución se pasa a través de filtros de malla de 17 µm y luego de 10 µm para eliminar cualquier impureza. Después, se combinan 79 cm³ de n-propanol, 1 litro de agua desionizada 18 M Ω y 20 g de agarosa seca y la mezcla se calienta en un baño de agua a 95 °C. La solución de agarosa fundida se enfría luego a 55 °C mientras que la leche condensada se calienta a esa temperatura para agregar 500 cm³ de solución de agarosa a 500 cm³ de leche condensada. La mezcla se agita a uniformidad y las burbujas de aire se eliminan de la superficie. Luego se agregan 1.03 g de EDTA y 0.6 g de CuCl₂ y la mezcla se agita nuevamente para asegurar la homogeneidad. Finalmente se agrega 1 g de perlas de vidrio de 45-53 µm de diámetro y se repite la agitación.

Para la forma "sólida" del material, la mezcla fundida se enfría primero a 45°C. Luego, el material fundido se vierte en el recipiente apropiado y se sella de la atmósfera. El **material imitador del músculo** se fabrica de manera similar al de la próstata con las siguientes diferencias de composición: utilizamos 60 g de agarosa seca a una solución a temperatura ambiente de 79 cm³ de n-propanol y 1 litro de agua desionizada; se añaden 0,82 g de EDTA y 0,48 g de CuCl₂ a 1 litro de mezcla fundida; se agregan 50 g de perlas de vidrio con un diámetro medio de 18 μ m a 1 litro de mezcla fundida.

Para simular la **grasa** el primer paso es cortar un disco circular (de 7,6 cm de diámetro, 2,5 cm de espesor) de malla de poliuretano (tamaño de poro 14) y colocarlo en el cilindro con las mismas dimensiones internas. Finalmente, se vierte aceite de cártamo en el cilindro.

4.4. Diseño, desarrollo y caracterización de un fantoma de próstata

Después de efectuar un análisis pormenorizado de los trabajos realizados en este contexto, en esta sección veremos el proceso de fabricación de un fantoma ecogénico prostático de Cera de Gel con aditivos, llevado a cabo en el laboratorio del Grupo TOA-UC y en el Hospital Virtual Valdecilla.

Así, la metodología seguida en este capítulo para la realización de un fantoma de próstata para ultrasonografía tiene tres fases: en primer lugar, se diseña el molde 3D y se fabrica para la realización de las pruebas; en segundo lugar, se estudian los materiales y las concentraciones necesarias de cada uno para que el fantoma sea lo más eficiente posible; y, por último, se evalúan los resultados con un escáner de ultrasonidos (Hitachi EUB 5500).

Para abordar la fase de diseño y fabricación del molde de la próstata con impresión 3D, se ha diseñado un molde con un hueco interno de las dimensiones de la próstata (60x40x30 mm), y se ha fabricado con la impresora 3D de filamentos fundidos Ultimaker 2 Extended +, con material de PLA Genérico.

El trabajo ha sido programado para desarrollar cinco prototipos utilizando como base un material llamado cera de gel, afinado acústicamente con los siguientes aditivos: cera de parafina en concentraciones del 0 al 8% del peso global para aumentar la atenuación acústica del fantoma, y esferas de vidrio sólidas de 0-63 µm de diámetro nominal para aumentar su retrodispersión. Estas últimas en concentraciones del 0 al 0.9% del peso global. Para abordar la fabricación de dichos prototipos, se han calculado teóricamente las proporciones necesarias de cada material y se han medido con una báscula analítica de 1 mg de precisión. Después, la cera de gel con los aditivos se funde a la temperatura adecuada para su manipulación, aproximadamente 115°C, у tras salvaguardar un margen de tiempo para la eliminación de las burbujas de aire, se vierte la mezcla en el molde de impresión 3D para que se solidifique formando el fantoma.

Para evaluar los fantomas hemos empleado el equipo de ultrasonidos Hitachi EUB 5500. Con él, hemos escaneado las imágenes de ultrasonidos de los fantomas de próstata. Dichas imágenes de ultrasonidos se han realizado a 7.5 MHz en modo B, con una sonda convexa y con los fantomas en disposición horizontal.

Al analizar los resultados obtenidos de evaluar cada uno de los cinco prototipos de fantomas de próstata, concluimos que el prototipo V es el que más se adapta a las características ecogénicas de la próstata humana; con un 6% de cera de parafina y un 0.5% de esferas de vidrio sobre una base de cera de gel. En la Figura 4 se muestra la imagen obtenida para dicho prototipo en la que se distinguen el retroesparcimiento introducido por las perlas de vidrio y como la atenuación que introduce la cera de parafina hace menos intensas las sucesivas interfaces.



Figura 4. Imagen de ultrasonidos de fantoma prostático

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Modificación mediante alta presión de las propiedades plasmónicas y luminiscentes de nanopartículas de metales y óxidos desnudas y recubiertas" (PGC2018-101464-B-I00), del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- The essential physics of medical imaging de Jerrold T. Bushberg, J.Anthony Seibert, John M. Boone, Edwin M. Leidholdt (Capitulo 16- Ultrasound); Editor: Lippincott Williams and Wilkins; 2001.
- [2] F. Fanjul-Vélez, J. M. de la Torre-Hernández, N. Ortega-Quijano, J. J. Zueco-Gil, J. L. Arce-Diego, "Comparative study between Ultrasonography and Optical Coherence Tomography in interventional cardiology", Proceedings of SPIE 7372, 73722D-1, 6 (Julio 2009).
- [3] Ultrasound in Med. & Biol., Vol. 36, No. 6, pp. 861–873, 2010
- [4] Histología Básica por Luis C. Junqueira y José Carneiro, Editorial: ELSEVIER – MASSON -España Año de edición: 2005
- [5] Efthymios Maneas et al 2018 Phys. Med. Biol. 63 015033
- [6] D'Souza WD, Madsen EL, Unal O, Vigen KK, Frank GR, Thomadsen BR. Tissue mimicking materials for a multiimaging modality prostate phantom. Med Phys 2001; 28:688–700

Uso de bioimpresión 3D para la creación de músculo esquelético

FJ Calero Castro¹, P. Villanueva Gómez¹, C González García¹, FJ Padillo Ruiz², F. de la Portilla de

¹ Grupo de Coloproctología Adscrito al IBiS, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Sevilla, España, fcalero@us.es ² Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España, fportilla@us.es

Resumen

La ingeniería tisular aplica las nociones de ingeniería en el ámbito de la salud para la producción de estructuras tisulares. La bioimpresión es una de las últimas tecnologías, utilizada en la medicina regenerativa ya que tiene un control preciso y permite la producción de andamios biocompatibles a partir de hidrogeles que recreen la matriz extracelular y que permitan la proliferación y diferenciación de las células.

Se pretende crear mediante bioimpresión tejido musculoesquelético a partir de hidrogeles con colágeno y PCL para recrear la matriz extracelular.

Se diseñó un andamio con un rombo en su interior que proporcionara un soporte al hidrogel celularizado. Se realizaron 4 hidrogeles a base de colágeno y con una densidad celular de 40x10⁶ celulas/mL. Tras 4 semanas de cultivo de los andamios tras la bioimpresión fueron fijados para su posterior tinción con Hematoxilina-Eosina y su marcaje con AMLs.

Se han creado 16 andamios mediante bioimpresión y se ha demostrado el buen comportamiento histológico de la biotinta de colágeno y alginato mostrando una viabilidad celular del 63%, llegando al 90% en el 50% de los andamios fabricados con esta biotinta. La biotinta de colágeno presentó una viabilidad del 24%; la biotinta de colágeno y matrigel del 40% y la denominada MEC 50%. Se ha visualizado el marcaje con anticuerpos de actina, demostrándose así la diferenciación inicial a músculo.

Se han testado 4 biotintas, mostrando que la formada por colágeno y alginato muestra una mayor viabilidad celular, logrando incluso diferenciación a músculo esquelético.

1. Introducción

La ingeniería tisular es un área multidisciplinar que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la salud para el desarrollo de estructuras biológicas, con el fin de generar tejidos o mejorar la función del tejido u órgano primitivo [1]. La ingeniería tisular se ha pronunciado en la regeneración y recuperación de tejido muscular atendiendo a las novedosas tecnologías y estrategias potenciales para asegurar una mayor precisión en la formación de tejidos y promover un mayor índice de éxitos en la regeneración y reparación del tejido muscular[2].

La bioimpresión en 3D es una de las últimas tecnologías, que está siendo muy útil en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa para desarrollar estructuras complejas de tejido para imitar a los órganos y tejidos a reemplazar. Esta técnica integra biomateriales, células vivas y sistemas controlados para la creación de estructuras complejas y ha demostrado tener un control más preciso sobre las estructuras desarrolladas que los métodos que están actualmente disponibles [3]. Uno de los componentes importantes de la bioimpresión 3D es la biotinta que se utiliza para la impresión. Este biotinta debe ser biocompatible y biodegradable para permitir la proliferación celular y mecánicamente estables durante el proceso de impresión [4]. Con esta biotinta se pretende recrear la matriz extracelular (MEC). La MEC es de los aspectos más importantes para promover una formación y restauración celular satisfactoria, ya que proporciona a las células el nicho microambiental y las señales necesarias para modular los procesos celulares críticos, entre los cuales se encuentra la migración, el comportamiento y la diferenciación celular durante el crecimiento y el desarrollo de los tejidos [5].

Yang et al. [6] intentaron regenerar tejido cartilaginoso a partir de bioimpresión 3D y un hidrogel de colágeno y alginato. Demostraron un buen comportamiento biocompatible y la viabilidad celular de los condrocitos cultivados en este hidrogel. Además, Hinton [7] contempla el uso de colágeno, fibrina, ácido hialurónico y matrigel como MEC que permite la diferenciación celular de mioblastos y la creación de fibras musculares.

Conociendo las buenas propiedades del colágeno, alginato y de la policaprolactona, se pretende crear mediante bioimpresión 3D tejido musculo-esquelético a partir de hidrogeles con colágeno para recrear la matriz extracelular, y con PCL crear una estructura tridimensional que dé soporte a este hidrogel.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño del andamio:

Se realizó el diseño 3D de las estructuras del polímero utilizados a través del programa FreeCAD 0.17 (FreeCAD© Juergen Riegel, Werner Mayer). Se diseñó principalmente un andamio de tamaño 2x1cm con un rombo en su interior (Figura 1) para poder estimularlo mecánicamente en el futuro y se exportó como archivo STL. Con el software Regemat3D designer se configuró la deposición de los diferentes geles sobre la estructura diseñada. Esta configuración se basa en un rectángulo con un patrón de relleno sólido sobre el andamio diseñado. Esta configuración se exportó a través del programa para traducir las instrucciones necesarias en "G-Code", al cual se le realizaron unas modificaciones para que se depositara 500µL de biotinta y 300µL de reticulador. Con el fin de mejorar la eficacia de la impresión, se añadieron un rectángulo externo que contuviera el andamio en su interior, con un total de cinco capas, para encapsular el hidrogel impreso en el andamio (Figura 1).



Figura 1. Diseño del andamio.

2.2. Cultivo celular:

Para el cultivo celular se emplearon células de músculo esquelético de Rattus norvegicus, línea celular L6 (ATCC® CRL-1458). Las células se cultivaron en medio de crecimiento (DMEM/High Glucose. HvCloneTM Dulbecco's) suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10% (F7524, SigmaAldrich) y penicilina-estreptomicina al 1% (15140-122, Gibco) (MG) y se mantuvieron en un incubador a 37°C y 5% CO2 hasta alcanzar un 85-90% de confluencia. Se subcultivaron las células empleando tripsina/EDTA al 0.05% (25300-062, Gibco) para su posterior inclusión en la biotinta. Los andamios fueron cultivados en placa con MG y se mantuvieron en un incubador con temperatura y dióxido de carbono (37°C y 5% CO2). Transcurrida una semana el medio fue modificado por medio de diferenciación (DMEM/High Glucose, HyCloneTM Dulbecco's) suplementado con suero fetal bovino al 2% (FBS) y penicilina-estreptomicina al 1% (MD) hasta completar 4 semanas desde su bioimpresión. En todo momento el medio fue cambiado cada 48-72 horas.

2.3. Creación de biotintas:

Se crearon cuatro tintas diferentes:

Colágeno: Se propuso la preparación de un hidrogel compuesto únicamente por colágeno tipo I (Cell guidance systems® UK, pH 2-3, Purity>99.9%, 3.5-4.5mg/ml).

Colágeno y matrigel: Se preparó el hidrogel con colágeno tipo I 3mg/ml y Matrigel (Corning Matrigel® U.S., 5ml) 2.5mg/ml.

Colágeno, matrigel, fibrinógeno, BSA La biotinta simplificada como MEC consiste en una dilución en PBS 1X de 3mg/ml colágeno tipo I, 0.3125mg/ml de Matrigel, 12.5mg/ml fibrinógeno (MP Biomedicals LLC® Solon, Ohio, pH 6.6, 1400 cfu/g), BSA 12.5mg/ml (Sigma-Aldrich®, New Zealand, pH 7).

Colágeno y alginato: una tinta a base de medio (DMEM/High Glucose, HyCloneTM Dulbecco's) suplementado con suero fetal bovino al 10% (F7524, SigmaAldrich) y penicilina estreptomicina al 1% (15140-122, Gibco) donde se disolvió alginato sódico de viscosidad baja (Sigma Aldrich) a una proporción de 20mg/mL. Finalmente se añadió colágeno (4 mg/ml) para conseguir una concentración de colágeno de 0.8mg/mL.

Para la siembra de cada andamio se usaron 20×10^6 células de músculo esquelético de Rattus norvegicus de pase 11-13 y una cantidad de 500uL de biotinta.

2.4. Bioimpresión 3D:

Preparadas las biotintas se procedió a preparar la bioimpresora. El proceso de bioimpresión se ejecutó en el siguiente orden:

- Con el extrusor de filamento polimérico se depositó el filamento de PCL, encargado de imprimir el andamio de PCL construyendo la forma previamente establecida y diseñada.
- 2) Una primera jeringa se usó para el caso de que fuera necesario usar una tinta como gel de soporte, es decir, en todos los casos exceptuando la biotinta de colágeno y alginato.
- La segunda jeringa se rellenó con la biotinta y las células de tejido musculo-esquelético. Se utilizó 500µL de este gel para cada andamio.
- 4) La última jeringa incorporó el reticulador, una solución neutralizadora para el caso de los geles que incorporan colágeno; colágeno y matrigel; colágeno y trombina; para los geles que lleven colágeno y fibrinógeno; y cloruro cálcico al 1% para la reticulación de alginato y colágeno.

2.5. Estudio histológico

Transcurridas las 4 semanas de cultivo, los andamios fueron fijados en PFA al 4% para su inclusión en bloques de parafina. Se realizaron secciones de un grosor aproximado de 4 micras para la tinción de las muestras con Hematoxilina-Eosina (H-E) y tinción con el anticuerpo actina de músculo liso (Actin, Smooth Muscle (1A4) Mouse Monoclonal Antibody, Cell Marque). Se analizaron las muestras haciendo uso del microscopio óptico Olympus BX-61.

3. Resultados

3.1. Fabricación de andamios celularizados

Se imprimieron 4 tipos de andamios celularizados con el diseño presentado y un tamaño de 2x1 cm (Figura 2), donde se ha variado la composición de la biotinta celularizada. A su vez, de tipo se han impreso 4 andamios (n=16).



Figura 2. Andamio de PCL, colágeno y alginato.

3.2. Histología

Los andamios de colágeno mostraron una viabilidad celular entre el 5 y el 60% ($\bar{x}=24\%$) de los cortes teñidos con H-E (Figura 3a). El resto de la muestra obtenida estaba compuesta de células necróticas y restos pertenecientes a los biomateriales que componen el andamio. La mayor viabilidad celular fue visible en los bordes del andamio y gran parte de necrosis en su interior. Uno de los andamios presentó una pequeña zona con células alineadas.

Los andamios de colágeno y matrigel presentaron una viabilidad celular entre el 20% y el 60% (\bar{x} =40%) (Figura 3B). En el 75% de los casos, la viabilidad fue vista en los extremos del andamio y formando filamentos, uno de los andamios presentó mayor viabilidad celular en el interior del andamio. El 50% de los andamios mostraron zonas con miocitos alineados.

Los andamios fabricados con la biotinta denominada MEC presentaron mayor viabilidad celular, entre un 40 y 75% (\bar{x} =59%) (Figura 3C). Sin embargo, en uno de los andamios hay poco andamio para valorar. Todos los andamios mostraron zonas formando filamentos con células viables, existiendo un 50% de los casos con células diferenciadas a músculo esquelético.

Los andamios fabricados con colágeno y alginato mostraron una viabilidad entre el 30% y el 90% (\bar{x} =63%) (Figura 3D). Todos los andamios mostraron la viabilidad celular formando esferas, y el 25% mostró además filamentos.



Figura 3. Cortes histológicos. 10X. A. Andamios de Colágeno. B. Andamio de colágeno y matrigel. C. Andamio MEC. D. Andamio de colágeno y alginato.

3.3. Inmunohistoquímica

Los andamios de colágeno mostraron un marcaje leve de un 5% de las células viables en el 50% de los casos, el 25% no mostró marcaje mientras que el resto presentó entre la escasa viabilidad celular un 30% de células marcadas con AMLs.

Los andamios de colágeno y matrigel no superaron el 10% de las células viables marcadas con AMLs, siendo mulo el marcaje en el 50% de los andamios.

EL 50% de los andamios fabricados con la biotinta denominada MEC presentaron un marcado leve de entorno al 10% del andamio. Este marcaje fue mayoritario en las

zonas filamentosas y bordes del andamio. El 25% mostró un marcaje de un 5% de las células viables. En el resto de los andamios el marcaje fue nulo.

El 25% de los andamios fabricados con colágeno y alginato no mostraron tinción con el anticuerpo de actina. El 50% presentó leves marcados en algunas zonas de entre el 1% y el 5% de las células viables, siendo predominante en los bordes del andamio. El resto presentó un marcaje mayor alcanzando un 40% de las células viables (Figura 4D), predominando este marcaje en filamentos celulares y bordes del andamio que han sido marcados.



Figura 4. Tinciones inmunohistoquímicas 20X. A. Andamios de Colágeno. B. Andamio de colágeno y matrigel. C. Andamio MEC. D. Andamio de colágeno y alginato.

4. Discusiones

La "Pérdida muscular volumétrica" ó VML ("Volumetric Muscle Loss") establece el umbral a partir del cual el músculo esquelético es incapaz de regenerarse por sí mismo[8]. Como apoyo a esta incapacidad de regeneración surge la ingeniería tisular o medicina regenerativa. Los andamios tisulares crean una plataforma para que las células migren al sitio de acción y formen nuevo tejido [9]. Las aplicaciones de la ingeniería tisular en los tejidos tendinosos y musculares están menos extendidas y son aún incipientes, con varios enfoques que todavía están lejos de las aplicaciones clínicas, pero muy útiles para el progreso en la comprensión de estos tejidos[10].

La capacidad de las bioimpresoras 3D para crear andamiajes acelulares y cargados de células con patrones prediseñados, arquitectura y distribución de células y factores biológicos ha impulsado importantes actividades de investigación dirigidas a resolver retos en el campo de la ingeniería tisular y la medicina regenerativa. Como resultado, se ha prestado una atención considerable al desarrollo de estrategias que faciliten la impresión en 3D de una variedad de hidrogeles y biopolímeros con la resolución adecuada [11].

Existen estudios en los que se demostrado el uso de la bioimpresión 3D para la creación de diferentes tejidos usando alginato [6], o la combinación de colágeno con matrigel y fibrina [7]. El objetivo principal buscado con los hidrogeles se basa en la reconstrucción in vitro de una matriz extracelular que permita a las células mesenquimales

diferenciarse y proliferar, actuando como los factores de diferenciación específicos que necesitan estas células para la miogénesis.

Este estudio es el primero que ha desarrollado andamios biocompatibles de PCL y biotintas celularizadas y ha testado la viabilidad celular demostrando así su posible uso y su marcaje con proteínas que caracterizan el músculo esquelético como es la actina.

En cuanto a la viabilidad celular, los andamios de colágeno y alginato han presentado mayor viabilidad que las demás biotintas. No obstante, todas las biotintas han presentado una gran variación entre la viabilidad de sus andamios.

El marcaje con actina nos indica la diferenciación celular hacia el tejido musculo-esquelético que se pretende. Según hemos visto en las tinciones anteriores, la biotinta que ha promovido con mayor éxito ha sido la formada por colágeno y alginato. Este marcaje se ha visto en estructuras que formaban filamentos de células.

Sin embargo, estas formaciones no han sido diseñadas ni establecidas por el andamio inicial que se fabricó. Estos filamentos se formaron debido a las dificultades presentadas en la coagulación de las biotintas probablemente relacionado con el tiempo de incubación. Esto no ocurrió en la biotinta compuesta de alginato. A su vez, la biotinta de colágeno y alginato se fue desintegrando a medida que aumentaba el tiempo en cultivo. Estos filamentos pueden haber permitido un aporte nutritivo mayor a las células y una mayor señalización celular hacia la morfología que deben adoptar los miocitos y así se ha podido obtener la diferenciación celular asemejándose a la estructura miotubular que caracteriza el músculo.

Este estudio abre la puerta de la ingeniería tisular en el campo de la regeneración del músculo-esquelético con unos resultados prometedores. Existen aspectos a mejorar como puede ser la estabilidad de la biotinta en el andamiaje. Nuestro grupo ya está trabajando en alternativas para ralentizar la desintegración de la biotinta de colágeno y alginato que tras este estudio ha mostrado una mayor viabilidad celular y mayor diferenciación a músculo.

De cara al futuro convendría testar algunas modificaciones en la morfología del andamio. Asemejar la deposición de la biotinta a un miotubo, ya que este sería el primer paso de diferenciación celular que deben sufrir [12], en este caso se ha intentado realizar una lámina rectangular, la cual puede dificultar la diferenciación celular. Para aumentar esta diferenciación celular sería necesario la estimulación tanto mecánica como eléctrica y permitir así que el tejido creado pueda tener contracciones de manera autónoma[13].

5. Conclusiones

Se han testado 4 biotintas, mostrando que la formada por colágeno y alginato muestra una mayor viabilidad celular, logrando incluso diferenciación a músculo esquelético. A su vez, se ha demostrado la facilidad que presentan las células para diferenciarse cuando se encuentran en estructuras formando filamentos. Es preciso ralentizar la desintegración del andamio.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Biobanco HUVR-IBIS (Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía e ISCIII-Red de Biobancos PT17/0015/0041) la evaluación y el apoyo técnico prestado.

Referencias

[1] R. S. Langer and J. P. Vacanti, "Tissue Engineering: The Challenges Ahead," *Sci. Am.*, vol. 280, no. 4, pp. 86–89, 1999.

[2] J. Liu, D. Saul, K. O. Böker, J. Ernst, W. Lehman, and A. F. Schilling, "Current Methods for Skeletal Muscle Tissue Repair and Regeneration," *Biomed Res. Int.*, vol. 2018, 2018.

[3] B. K. Gu, D. J. Choi, S. J. Park, M. S. Kim, C. M. Kang, and C.-H. Kim, "3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications," *Biomater. Res.*, vol. 20, no. 1, p. 12, 2016.

[4] J. Gopinathan and I. Noh, "Recent trends in bioinks for 3D printing," *Biomater. Res.*, vol. 22, no. 1, pp. 1–15, 2018.

[5] Y. J. Choi *et al.*, "3D Cell Printing of Functional Skeletal Muscle Constructs Using Skeletal Muscle-Derived Bioink," *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 5, no. 20, pp. 2636–2645, 2016.

[6] X. Yang, Z. Lu, H. Wu, W. Li, L. Zheng, and J. Zhao, "Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 83, pp. 195–201, Feb. 2018.

[7] T. J. Hinton *et al.*, "Three-dimensional printing of complex biological structures by freeform reversible embedding of suspended hydrogels," *Sci. Adv.*, vol. 1, no. 9, 2015.

[8] B. T. Corona, J. C. Rivera, J. G. Owens, J. C. Wenke, and C. R. Rathbone, "Volumetric muscle loss leads to permanent disability following extremity trauma," *J. Rehabil. Res. Dev.*, vol. 52, no. 7, pp. 785–792, 2015.

[9] U. Jammalamadaka and K. Tappa, "Recent advances in biomaterials for 3D printing and tissue engineering," *J. Funct. Biomater.*, vol. 9, no. 1, 2018.

[10] M. Beldjilali-Labro *et al.*, "Biomaterials in tendon and skeletal muscle tissue engineering: Current trends and challenges," *Materials (Basel).*, vol. 11, no. 7, 2018.

[11] N. Faramarzi *et al.*, "Patient-Specific Bioinks for 3D Bioprinting of Tissue Engineering Scaffolds," *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 7, no. 11, pp. 1–9, 2018.

[12] R. Cooke, "The Sliding Filament Model," J. Gen. Physiol., vol. 123, no. 6, pp. 643–656, 2004.

[13] D. C. Turner *et al.*, "Exercising Bioengineered Skeletal Muscle In Vitro: Biopsy to Bioreactor BT - Myogenesis: Methods and Protocols," S. B. Rønning, Ed. New York, NY: Springer New York, 2019, pp. 55–79.

Análisis de las propiedades dependientes de la frecuencia e intensidad de una fibra nerviosa auditiva

N. Castañeda-Villa¹, V. González-Vélez², A. Gil³

¹ Depto. Ingeniería Eléctrica, Área de Ingeniería Biomédica, UAM Iztapalapa, México, ncv@xanum.uam.mx

 2 Depto. Ciencias Básicas, UAM Azcapotzalco, México, vgv@azc.uam.mx

³ Depto. de Matemática Aplicada y CC de la Comput, Universidad de Cantabria, España, amparo.gil@unican.es

Resumen

La transmisión de un sonido desde el oído externo hasta el sistema nervioso central depende en gran medida de la conexión entre las células ciliadas internas de la cóclea y las fibras del nervio auditivo, las cuales forman una sinapsis temporalmente muy precisa, fiable en la transmisión y adaptable a las características del sonido. Cada fibra nerviosa dispara potenciales de acción de acuerdo a sus propias características y a la señal que recibe de la sinapsis, mostrando una cierta velocidad o tasa de disparo. Esta tasa es un parámetro muy estudiado para entender la transmisión y la interpretación de los sonidos percibidos. En este artículo se presentan simulaciones de las tasas de disparo de una fibra de alta tasa espontánea, con el fin de analizar sus propiedades dependientes de la frecuencia e intensidad, utilizando como estímulo tonos ráfagas de 50 ms de duración en un intervalo de frecuencias de 100 a 8000 Hz e intensidades entre 0 y 100 dB. Estas propiedades permiten observar la sensibilidad y la selectividad de las fibras nerviosas auditivas, las cuales determinan la correcta transmisión de las características del sonido para su adecuada interpretación a nivel cerebral.

1. Introducción

El sentido del oído permite obtener información de la presencia, ubicación e intensidad de los sonidos del entorno, para lo cual se requiere desde una correcta detección del sonido en la región del oído externo, medio e interno hasta una adecuada interpretación del mismo a nivel cerebral. La primera etapa de la vía auditiva que traduce el estímulo sonoro en una respuesta químicaeléctrica es la sinapsis conformada por las células ciliadas de la cóclea y las fibras del nervio auditivo (sinapsis de listón). Esta sinapsis libera moléculas de glutamato en respuesta al movimiento mecánico debido a la presión sonora, y a su vez el glutamato estimula a los receptores específicos localizados en la fibra nerviosa [1]. Heil y Peterson [5] puntualizan que las tasas de disparo de espigas del nervio auditivo están prácticamente determinadas por los eventos de secreción ocurridos en las sinapsis de listón, además de que discuten ampliamente la importancia de conocer las propiedades de las fibras nerviosas auditivas para poder entender y clasificar los diferentes padecimientos audiológicos.

Cada una de las fibras del nervio auditivo es capaz de responder produciendo un potencial de acción o espiga

eléctrica de intensidades y frecuencias específicas en relación al estímulo sonoro recibido. Dicha respuesta eléctrica se debe a los receptores localizados en la membrana de la fibra que hace la sinapsis. Estos receptores son sensibles al glutamato y cada receptor puede ligar varias moléculas de glutamato para abrirse y así generar un potencial de acción o espiga que es proporcional al número de receptores abiertos. Las fibras del nervio auditivo pueden disparar espontáneamente o en respuesta a un estímulo, presentando tasas espontáneas de baja, media o alta frecuencia, es decir, que están diseñadas para responder con diferente sensibilidad y selectividad a un mismo estímulo; esto le permite al sentido del oído generar metainformación sobre los sonidos percibidos [2].

En un trabajo previo [4] analizamos las tasas de disparo de fibras nerviosas en respuesta a tonos puros de diferentes intensidades y frecuencias. En este trabajo, además de simular las tasas de descarga o tasas de disparo de una fibra nerviosa de alta tasa espontánea en respuesta a tonos de diferentes frecuencias e intensidades, presentamos el análisis de las propiedades de estas fibras nerviosas que hacen posible la transmisión precisa de información sonora hacia el sistema nervioso central, y que son propiedades que no es posible medir directamente con técnicas básicas de medición de la audición en la práctica clínica.

2. Métodos

Las simulaciones aquí presentadas muestran las tasas de descarga (*firing rate*, o FR) de una fibra nerviosa en respuesta a un tono puro de 50ms de intensidades entre 0 y 100 dB y frecuencias entre 100 y 8000 Hz. Para modelar la vía auditiva desde el oído externo hasta la célula ciliada de la cóclea se ha utilizado el modelo de Meddis [3], de manera que la secreción de glutamato de la célula ciliada se usa como entrada a nuestro modelo de fibra nerviosa, en concordancia con lo discutido en [5].

La respuesta eléctrica de la fibra nerviosa se modela teniendo en cuenta sólo los receptores de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA), que son los receptores para glutamato de rápida respuesta, como se describe en [4]. Para el modelo, consideramos que estos receptores están uniformemente distribuidos en un zona tipo disco de 0.1 micras de radio por 10 nanómetros de alto. Estos receptores generan una corriente eléctrica que da origen a los potenciales de acción de la fibra, más conocidas como espigas. La frecuencia e intensidad de estas espigas son moduladas tanto por las características del estímulo sonoro como por las propiedades de la fibra misma, lo cual forma en conjunto la respuesta dinámica de un sistema complejo muy interesante de analizar. La tasa máxima de descarga de espigas se obtiene como el número máximo obtenido en los 50 ms que dura un estímulo de una intensidad y una frecuencia específica.

3. **Resultados**

La Figura 1 muestra los tonos ráfaga con duración de 50 ms utilizados para simular las tasas de disparo de una fibra nerviosa. La primera fila de la figura contiene los tonos puros de 100 y 8000 Hz a 100 dB, a modo de ejemplo, y la segunda fila muestra las simulaciones que obtuvimos de las tasas de disparo (FR) para cada uno de esos tonos. Las FR se simularon para todas las intensidades entre 0 y 100 dB para cada uno de los tonos de frecuencias 100, 125, 500, 1000 y 8000 Hz.



Figura 1. Tasas de disparo (FR) inducidas por dos tonos, uno de 100 Hz (primera columna) y otro de 8000 Hz (segunda columna). El tono de 8000 Hz tiene un inserto en 1 ms para mostrar que es una señal sinusoidal similar al tono de 100 Hz pero de mayor frecuencia.

En la literatura se menciona que diversos mecanismos contribuyen a la reducción general de la tasa de disparo, a lo que se le denomina *adaptación* y sus características dependen de factores como la tasa espontánea de disparo y la frecuencia característica de la fibra nerviosa auditiva, así como la frecuencia e intensidad del estímulo utilizado [5].

3.1 Función tasa de disparo-intensidad

La Figura 2 muestra las propiedades de la fibra nerviosa auditiva dependientes de la intensidad del estímulo, para una banda de frecuencias entre 100 y 8000 Hz. Se puede observar cómo para cada una de estas frecuencias, la tasa máxima de disparo (FR max) varía en función del nivel intensidad del estímulo. Con el aumento del nivel intensidad, la FR max aumenta monótonamente antes de saturarse con intensidades altas, mayores a 100dB. Como ya se ha observado, la relación entre la FR y la intensidad sigue una función sigmoidea, existiendo un corrimiento entre las curvas de baja y alta frecuencia [2,5].



Figura 2. Máxima tasa de descarga (FRmax) versus nivel de intensidad de un estímulo ráfaga, para fibras nerviosas auditivas entre 100 y 8000 Hz.

Lo anterior está relacionado con una característica importante de la función tasa de disparo-intensidad, llamada rango dinámico (Δ). Éste cuantifica la capacidad de las fibras nerviosas para discriminar la intensidad del estímulo de entrada. El rango dinámico se determina como el rango de intensidades donde las curvas están en el 50% de la distancia entre el umbral y el nivel de saturación (ver Figura 2). En nuestro caso, el umbral lo obtenemos como el valor de FR que es 1% mayor que el valor a 0 dB, y el nivel de saturación como el valor de FR a 100 dB. De esta forma, obtenemos que el rango dinámico de la fibra, entre la frecuencia más baja y más alta, es de 20dB. Nótese que a 0 dB la fibra está disparando con su tasa espontánea, la cual está alrededor de 104/s por ser una fibra de tasa espontánea de alta frecuencia.

3.2 Respuesta en frecuencia de iso-intensidad

En la Figura 3 se muestran las curvas de iso-intensidad para una fibra del nervio auditivo. Para generar cada una de las curvas, la intensidad del tono ráfaga utilizada se mantiene constante mientras se varía la frecuencia de 100 a 8000Hz. La tasa de disparo máxima generada por la fibra nerviosa se simula para cada una de estas frecuencias; cuanto mayor sea la FR max, más selectiva será la fibra a esa frecuencia en particular.


Figura 3. Tasa de disparo máxima (FR max) en función del nivel de intensidad de los tonos ráfaga (20, 50, 70 y 100 dB) en un rango de frecuencias de 100 a 8000 Hz; se marca la frecuencia de resonancia para las intensidades de 20 y 50dB.

Es posible observar las formas de V o U invertida que tienen las curvas de iso-intensidad; en nuestra simulación esto es evidente a 50dB, con un máximo (frecuencia de resonancia) a 2000Hz. A niveles de sonido bajos (20dB), el rango de frecuencias que evoca una respuesta es estrecho, y la FR es máxima en la frecuencia de 1000 Hz. Con el aumento del nivel de intensidad, la FR max también aumenta y se tiene un rango de frecuencias amplío; mayor a 8000 Hz a la intensidad de 70dB. A niveles de intensidad más altos (por ejemplo 100 dB), las curvas de iso-intensidad se aplanan en un rango amplio de frecuencias (ver trazo magenta en la figura 3), es decir, cuando el estímulo sonoro es muy intenso, se reduce la selectividad de la respuesta evocada en la fibra nerviosa.

4. Discusión y Conclusiones

En este artículo se analizan dos de las propiedades de las fibras nerviosas auditivas dependientes de la frecuencia e intensidad de tonos ráfaga de 50ms de duración: 1) la Función tasa de disparo-intensidad y 2) la Respuesta en frecuencia de iso-intensidad. La primera hace referencia a la sensibilidad de las fibras mientras que la segunda describe la selectividad de las mismas. Estas dos propiedades de las espigas disparadas por las fibras nerviosas son de gran importancia para entender la codificación de información de la vía auditiva, lo cual permite que los sonidos percibidos por el sentido del oído se localicen e interpreten correctamente a nivel cerebral. En cuanto a las tasas de disparo en función de la intensidad fue posible observar que tienen formas sigmoideas con un comportamiento monótono que coincide con información experimental disponible en la literatura [5]. La zona central de esta función sigmoidea se conoce como rango dinámico y está relacionada con la tasa espontánea de disparo de la fibra nerviosa [2].

En cuanto a la adaptación del rango dinámico, nuestros resultados son consistentes con datos experimentales obtenidos en gatos [6] y otros mamíferos excepto ratón [2], para los que el rango dinámico de la mayoría de las neuronas auditivas está entre 20 y 40 dB.

Es posible observar en la curvas iso-intensidad cómo la respuesta de la fibra nerviosa se atenúa para los estímulos con frecuencias más bajas y más altas de la frecuencia de resonancia. Aunque sólo se muestran cuatro intensidades en la Figura 3, es posible notar cómo la selectividad de la respuesta va disminuyendo conforme aumenta la intensidad.

Las simulaciones presentadas en este estudio se limitan a una fibra de alta tasa espontánea de disparo. En futuros trabajos se contempla agregar a las simulaciones el efecto de las tasas de disparo espontáneas bajas y medias, además de utilizar tonos modulados en frecuencia para observar el *bloqueo de fase*, otra de las propiedades de las fibras nerviosas auditivas que también es importante para entender los mecanismos que participan en la correcta transmisión de un sonido a lo largo de la vía auditiva.

Cabe mencionar que las propiedades de las fibras nerviosas analizadas en este trabajo son alteradas cuando existe una pérdida auditiva sensorineural causada por exposición excesiva a ruido, por el uso de ototóxicos, por la edad, por enfermedades congénitas o por infecciones. Sin embargo, dichas propiedades son imposibles de medir directamente y sólo pueden ser inferidas a partir de técnicas audiológicas usadas en la práctica clínica, tales como los potenciales auditivos de tallo cerebral.

Referencias

- Safieddine S, El-Amraoui A, Petit C, The Auditory Hair Cell Ribbon Synapse: From Assembly to Function, *Annual Review of Neuroscience*, vol 35, num 1, 2012, pp 509–528 (ISSN: 0147006X, 15454126).
- [2] Taberner AM, Liberman MC, Response properties of single auditory nerve fibers in the mouse, *Journal of Neurophysiology*, vol 93, Num 1, 2005, pp 557-569 (ISSN: 1522-1598).
- [3] Meddis R, Auditory-nerve first-spike latency and auditory absolute threshold: a computer model, *Journal of the Acoustical Society of America*, vol 119, 2006, pp 406-417 (ISSN: 15208524).
- [4] González-Vélez V, Castañeda-Villa N, Simulación de las tasas de disparo inducidas por receptores de glutamato en sinapsis auditivas de listón, *Memorias del XLI Congreso Nacional de Ingeniería Biomédica*, León, Guanajuato, México, 2018, pp 411-413 (ISSN: 2395-8928).
- [5] Heil P, Peterson AJ, Basic response properties of auditory nerve fibers: a review, *Cell Tissue Research*, vol 361, 2015, pp 129-158 (ISSN: 1432-0878).
- [6] Wen, B., Wang, G. I., Dean, I., Delgutte, B. Dynamic range adaptation to sound level statistics in the auditory nerve. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, vol 29, num 44, 2009, pp 13797–13808 (ISSN: 1529-2401).

Diseño e implementación de un módulo de trauma hemorrágico para simulación clínica

B. Martín Calpena¹, J. Rubio Bolívar², B. Larraga García¹, M. Quintana Díaz², A. Gutiérrez Martín¹,

¹Departamento de Fotónica y Bioingeniería, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid. España, {beamcalpena}@gmail.com, {blanca.larraga, a.gutierrez}@upm.es

² Instituto de Investigación IdiPAZ, Hospital Universitario La Paz, Madrid. España

{javier84.rubio, mquintanadiaz}@gmail.com

Resumen

El trauma hemorrágico es una de las mayores causas de muerte en el mundo, por lo que la práctica de protocolos de actuación frente a estas situaciones por parte de los equipos médicos es de gran importancia. El control del trauma hemorrágico es esencial no solo para los equipos médicos, sino también para aquellas personas que necesitan realizar una primera atención médica fuera de los hospitales. Es por ello por lo que, un módulo de sangrado para la simulación clínica puede ser un complemento útil para la asimilación de los protocolos de actuación frente a casos en los que el paciente sufra un traumatismo hemorrágico. En este trabajo se ha desarrollado un simulador capaz de reproducir diferentes escenarios de traumas hemorrágicos dependiendo del tipo de vaso afectado y la localización del mismo. Además, para el control y manejo del simulador, se ha creado una interfaz gráfica que permite la configuración de este tipo de escenarios de forma automática.

1. Introducción

La simulación clínica es una nueva forma de aprendizaje que está evolucionando de forma significativa en el sector salud. Esta simulación requiere incorporar no solo conceptos teóricos, sino también habilidades de comunicación proporcionando un proceso de aprendizaje más completo. El uso de ejercicios de simulación como parte de la formación de los equipos médicos es uno de los objetivos principales de la simulación clínica [1].

Un módulo de trauma hemorrágico para simulación clínica consiste en un dispositivo electromecánico basado en la estructura y funciones que realiza el sistema cardiovascular. Se diseña para apoyar la creación de diferentes escenarios de trauma hemorrágico y así, ayudar a los clínicos a tener una visión lo más realista posible de casos a los que deberán hacer frente.

Los simuladores de trauma hemorrágico se pueden clasificar dependiendo de la realimentación que se requiera por parte del paciente y las habilidades a practicar. Hay dos tipos de simuladores: de baja, media y alta fidelidad. La principal diferencia es que los simuladores de alta fidelidad proporcionan respuesta por parte del paciente mientras que los de baja fidelidad no [2].

De esta manera, los clínicos reciben formación con respecto al trauma hemorrágico, reproduciendo situaciones reales que se dan en el hospital y asimilando de una manera más efectiva los protocolos de actuación. Esta práctica les ayuda a reducir el tiempo de reacción cuando un paciente sufre un daño en el sistema cardiovascular. No obstante, para cuando estas situaciones se dan fuera del hospital, ⁶⁸ donde los primeros cuidados médicos son clave, incluso el personal que no es clínico debería tener conocimiento sobre el control de hemorragias. Por esta razón, los ejercicios de simulación son esenciales para formar a diferentes perfiles y así poder reducir daños en los pacientes. Además, permite entrenar diferentes técnicas de tratamiento de hemorragias mediante torniquetes, tipos de vendajes u otros dispositivos.

Según el Instituto Nacional de Trauma de Texas (EE. UU), el daño por trauma es una de las mayores causas de muerte en el mundo (47% de las muertes) siendo un número que incrementa anualmente [3]. En consecuencia, el desarrollo de un simulador puede favorecer en la respuesta frente a estas situaciones.

El artículo se organiza de la siguiente manera: en la Sección 2 se presenta un resumen del trauma hemorrágico. La Sección 3 explica el diseño hardware realizado y la Sección 4 el diseño software para el correcto funcionamiento del simulador. En la Sección 5 se presentan los resultados y la validación clínica del simulador. Por último, la Sección 6 presenta las conclusiones.

2. Trauma hemorrágico

El trauma se define como un daño corporal causado por un agente externo que produce no solo daños en la superficie dérmica y en los tejidos inferiores, sino también daños secundarios que pueden poner en riesgo la vida de los pacientes tales como shock, paro respiratorio y muerte. [4]

Puesto que un trauma puede afectar a varios órganos y tejidos, existen varias clasificaciones que se utilizan como guía para establecer protocolos de actuación. La Escala Abreviada de Lesiones creada por la Asociación para el Avance de la Medicina Automotriz proporciona una clasificación con un código de siete números [5]. El primer número hace referencia a la región del cuerpo afectada, el segundo al tipo de estructura anatómica, los dos siguientes especifican más detalladamente la estructura anatómica que sufre la lesión, el quinto y sexto número hace referencia a la regiención y el último número hace referencia a la sufrido y el último número hace referencia a la severidad.

En cualquier trauma, el sistema cardiovascular se ve casi siempre afectado produciéndose hemorragias. Es por esto por lo que se pueden derivar daños mayores en órganos y tejidos. Además, si ocurre un sangrado masivo puede originar lo que se llama un shock hemorrágico que afecta a la estabilidad hemodinámica del cuerpo, además de que

ISBN 978-84-09-16707-4 Actas del XXXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica, pages 68–71

ocasiona daños a órganos, que en el peor de los casos puede llevar a un fallo multiorgánico [6]. Durante un shock hemorrágico, el ritmo cardíaco aumenta por el bajo nivel de oxígeno en sangre, la frecuencia respiratoria aumenta y esa falta de oxígeno provoca cambios que afectan al sistema nervioso central (SNC). El shock hemorrágico se puede clasificar en cuatro niveles, tal y como se muestra en la Tabla 1 [7].

Parámetros	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4
Pérdida de sangre (mL)	750	750-1500	1500- 2000	>2000
% sangre perdida	15%	15-30%	30-40%	>40%
Ritmo cardíaco (latidos/min)	<100	100-120	120-140	>140
Frecuencia respiratoria (respiraciones/ min)	14-20	20-30	30-40	>40
Síntomas del SNC	Normal	Ansiedad	Confusió n	Letargo

Tabla 1. Niveles de shock hemorrágico.

Es muy importante identificar estos niveles para poder responder de forma adecuada y controlar la hemorragia. El tiempo de reacción en estos casos es decisivo para el paciente. Además, dependiendo del tipo de vaso afectado (vena y/o arteria) y de la localización del mismo (central o periférico) la recuperación del daño será más o menos complicada.

Está demostrado que la simulación clínica contribuye al desarrollo del personal clínico, aportando la integración de diferentes habilidades, técnicas y ganando confianza a la hora de hacer frente a diferentes escenarios [8]. Es por ello por lo que se plantea desarrollar un módulo de simulador de trauma portátil que simule diferentes sangrados según el tipo y la ubicación del vaso afectado y que se pueda controlar de forma automática a través de una interfaz gráfica.

3. Diseño hardware

Para cumplir con el objetivo de este trabajo, el simulador de trauma a diseñar debe ser portátil, fácilmente incorporado a otros simuladores del mercado, flexible, robusto y de tamaño reducido.

Diseño mecánico

El diseño mecánico tiene que cumplir, entre otros, con el requisito de que el simulador sea lo más parecido a la realidad posible. Por esto los materiales usados son (ver Figura 1):

• Piel: se va a fabricar una banda de piel, que está hecha de tres capas de siliconas de diferentes densidades. Estas tres capas simulan la capa muscular, la capa grasa y la superficial de la piel.

- Tubos flexibles: la sangre simulada circulará a través de dos conductos flexibles que representan los vasos sanguíneos. Se insertarán entre las capas de la piel fabricada y tienen una longitud suficiente para alcanzar a cualquier parte del cuerpo.
- Tanque de líquido: se precisan dos tanques de líquido donde almacenar la sangre a bombear, uno para sangre arterial y otro para sangre venosa.



Figura 1. Módulo de trauma.

Diseño electrónico

Para el desarrollo de este diseño se ha decidido utilizar las siguientes plataformas:

- Raspberry Pi 3 Modelo B+: es un ordenador de bajo coste que se ha seleccionado para ser el servidor web con conexión wifi. Es el encargado de comunicar a los usuarios (profesores y alumnos con el Arduino Due).
- Arduino Due: recibe la información de la Raspberry Pi para ejecutar los escenarios de simulación introducidos en la interfaz gráfica. Conecta con los sensores y actuadores existentes en el simulador.

Este diseño se compone de dos secciones importantes, una que proporciona información acerca de cómo se está controlando la hemorragia (acción del alumno) y otra que es la que gestiona la información para reproducir el escenario de trauma hemorrágico (acción del profesor).

Las dos secciones son:

 Control de la hemorragia: se realizará usando sensores de presión (ver Figura 2) que darán información acerca de si el alumno está realizando la presión suficiente para cortar la hemorragia o no. Además, se tendrá en cuenta los diferentes tipos de vasos sanguíneos y sus ubicaciones para determinar si la actuación es la correcta. El sensor de presión actúa como una resistencia variable en función de la presión, se ha alimentado a 5 V y conectado a la electrónica de control a través de un ADC de 10 bits.



Figura 2. Sensor de presión.

• Trauma hemorrágico: para poder generar diferentes tipos de hemorragias se ha diseñado un circuito de control con dos relés y dos bombas de agua (ver Figura 3). En el caso de que el sangrado sea arterial, la activación del relé se hará de forma pulsátil mientras que si es venoso, la activación será continua. Para activar el relé es preciso incluir un transistor BJT bipolar y así regular la corriente para conseguir los 5 V que activan el relé, partiendo de los 3,3 V que proporciona el pin digital de la placa Arduino Due.



Figura 3. (a) Relé de 5 V. y (b) Bomba de agua.

4. Diseño software

El diseño software ha sido desarrollado siguiendo el esquema de la Figura 4. Se han tenido en cuenta los siguientes requisitos:

- El simulador debe ser capaz de reproducir diferentes escenarios de trauma hemorrágico diferenciando entre sangre arterial y venosa y entre vasos centrales y periféricos.
- El simulador tiene que ser controlado por una interfaz gráfica intuitiva y proporcionar una conexión en tiempo real.



Figura 4. Esquema del software.

Desarrollo de la interfaz gráfica

Se desarrolla una interfaz gráfica que proporciona acceso a la configuración de diferentes escenarios de trauma hemorrágico. Esta interfaz ofrece dos opciones (ver Figura 5): una opción manual en la que el profesor puede configurar el caso libremente y otra opción automática en la que existen casos preestablecidos con parámetros ya definidos.

me:		
Mar	nual	Simulation
Start/S Vype of vessel: Central Peripheric Pressure: 0	Stop Type of bleeding: Arterial Venous	Case1 Hospital scenario: - Adul men - Hemorrhagic shock level 3 - Vein femoral injury Case2 Prehospital scenario: - Pediatric patient - Peripheral artery injury Case3 Hospital scenario: - Pregnant woman patient - Abdominal injury level 3

Figura 5. Interfaz gráfica.

Comunicación

El servidor web guarda los datos en dos archivos de texto: uno de ellos graba el estado de simulación y en el otro se graba la información del alumno, el tipo de vaso y el tipo de sangrado. Posteriormente un script de Python lee esta información y la envía al Arduino Due mediante un bus serie.

Software del simulador

El software desarrollado en el Arduino Due es el encargado de activar el trauma hemorrágico tras recibir la información del servidor web. Éste envía señales a las bombas para su activación y recibe la señal del sensor de presión. La señal que se envía a las bombas se realiza activando el sangrado arterial cada 200 milisegundos y el venoso de forma continua. Por otro lado, se establece un temporizador que permite obtener la información del sensor de presión cada 200 milisegundos, permitiendo ver la evolución del control de la hemorragia que está realizando el alumno.

5. Resultados y validación clínica

Resultados

Se llevan a cabo dos pruebas diferentes: una para comprobar el funcionamiento del simulador con respecto al tipo de sangrado y otra para monitorizar la presión ejercida en el control de la hemorragia.

Con respecto al tipo de sangrado, se puede obtener el valor de activación de las bombas: sangrado arterial, venoso o arterial y venoso. En la Figura 6 se muestra como ejemplo el resultado de activar en el simulador un sangrado venoso, donde éste es continuo en el tiempo y el arterial se muestra desactivado.



Figura 6. Funcionamiento del sangrado venoso.

Con respecto a la presión ejercida, la localización del vaso juega un papel importante. Si el vaso es central, la presión necesaria para controlar la hemorragia será mayor que para el caso de un vaso periférico. En este sentido se realizan diversas pruebas con médicos especialistas para obtener la presión de referencia para poder controlar la hemorragia de vasos centrales y periféricos siendo esos valores 5V y 2,93V respectivamente (en el ADC 600 y 1023 respectivamente). La Figura 7 muestra el resultado de la evolución del sangrado en un vaso periférico cuando se ejerce presión para el control del mismo. Se observa que cuando se alcanza el valor de 600 en el sensor de presión, el sangrado para. Si se deja de ejercer esa presión, la hemorragia continúa.



Figura 7.Sangrado de un vaso periférico.

Validación clínica

Se ha realizado una validación con clínicos de diferentes hospitales y unidades clínicas, evaluando tanto el simulador como la interfaz gráfica. Para ello, se les ha proporcionado a cada uno un cuestionario con once preguntas en las que deben evaluar (de 1 a 5) ambos aspectos (simulador e interfaz) tras realizar pruebas con el simulador. El personal clínico encontró el simulador muy útil para practicar un posible escenario de trauma hemorrágico (puntuación 5) y que la interfaz era muy fácil de usar e intuitiva (puntuación 4,5); además, la piel fabricada aporta realidad al simulador (puntuación 4,3). No obstante, esta validación también sirvió para recibir sugerencias de aspectos a mejorar como la inclusión del tiempo en el escenario como otra variable. Actualmente se está trabajando en incluir este aspecto en el simulador.

6. Conclusiones

El principal objetivo de este proyecto ha sido el diseño e implementación de un simulador de trauma hemorrágico para simulación clínica. Con este simulador se ha demostrado que los clínicos pueden practicar diferentes protocolos de actuación adquiriendo habilidades necesarias y reduciendo el tiempo de actuación frente a este tipo de traumas.

Este módulo de simulación no solo proporciona diferentes escenarios de sangrado, sino que también simula una herida consecuencia de un trauma de forma bastante real. Además, proporciona información en tiempo real de la actuación del alumno durante el control de la hemorragia.

Teniendo en cuenta los simuladores existentes en el mercado y los más usados en centros de simulación de hospitales, este módulo ofrece escenarios automáticos controlados que permiten a los equipos médicos practicar escenarios reales.

Agradecimientos

Agradecer al Hospital Universitario de La Paz y al Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería de la Universidad Politécnica de Madrid por todo el apoyo recibido durante este trabajo. Finalmente, gracias a todas las personas que participaron en las pruebas de validación clínica por su tiempo y disposición.

Referencias

- [1] Lamé G, Dixon-Woods M. Using clinical simulation to study how to improve quality and safety in healthcare. *BMJ Simulation and Technology Enhanced Learning*. (ISSN: 2056-6697).
- [2] Munshi F, Lababidi H, Alyousef S. Low- versus high-fidelity simulations in teaching and assessing clinical skills. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, vol 10, sup 1, 2015, pp 12-15 (ISSN:1658-3612).
- [3] National Trauma Institute. Trauma Statistics and Facts. https://www.nattrauma.org/what-is-trauma/traumastatistics-facts/, 2015. [Online; accessed 24/04/2019].
- [4] Association for the Advancement of Automotive Medicine. ABBREVIATED INJURY SCALE (AIS). https://www.aaam.org/abbreviated-injury-scale-ais/, 2008.
 [Online; accessed 04/06/2019].
- [5] Greaves I, Porter K M, Ryan J M. (2007). Trauma critical care. Informa Healthcare USA, New York, USA. (ISBN: 978-0-8247 2920 2).
- [6] Víctor Parra M. Shock Hemorrágico. Revista Médica Clínica Las Condes, 22(3):255-264, 2011.
- [7] Jeremy W. Cannon, M.D. Hemorrhagic Shock. The New England Journal of Medicine, 378(4):370-379, 2018.
- [8] David DeKunder. USAISR pilot program provides training on burn care to deploying servicemembers. https://www.jbsa.mil/News/News/Article/1665571/usaisrpilot-program-provides-training-on-burn-care-to-eployingservicemembers/,2018. [Online; accessed 24/05/2019].

Microfluidic filtering unit for the evaluation of Red Blood Cells mechanical properties: a rare haemolytic anaemia model

V. Rizzuto^{1,2}, A. Mencattini³, B. Álvarez-González^{1,4}, M.A. Ortega¹, J. Ramon-Azcon¹, E. Martinelli³, D. Beneítez-Pastor⁵, M.M. Mañú Pereira⁶, M.J. Lopez-Martinez ^{1,4,7}, J. Samitier ^{1,4,7}

¹ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain {vrizzuto, mlopezm, jsamitier}@ibecbarcelona.eu

² Josep Carreras Leukaemia Research Institute, Barcelona, Spain

³ University of Rome Tor Vergata, Rome, Italy {mencattini, martinelli}@ing.uniroma2.it

⁴ Centre for Networked Biomedical Research (CIBER-BBN), Madrid, Spain

⁵ Erithropatology Unit, Hematology Department. Hospital Universitari Vall d'Hebron {dbeneitez}@vhebron.net ⁶ Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona, Spain {mar.manu}@vhir.org

⁷University of Barcelona, Barcelona, Spain

Abstract

Rare haemolytic anaemia (RHA) is a group of rare diseases characterized by haemolysis, which is the premature loss of red blood cells (RBCs), mainly in the spleen. This is compensated by an increase of the erythropoiesis. The balance between haemolysis and erythropoiesis will determine the severity of haemolytic anaemia. Therapeutic interventions for these diseases include regular RBCs transfusions and splenectomy.

The spleen, as the organ responsible for removing old and defective RBCs from blood circulation, plays a key role in the prognosis and morbidity of RHA. Its function is highly heterogeneous among RHA patients, in some disorders the new patient clinical status after splenectomy ranges from a complete compensated haemolysis to almost no response.

RBCs of affected patients have variable mechanical properties; whose quantification is important to establish the changes produced in each individual case. We aim to develop a tool (microfluidic device) to accurately quantify the mechanical properties of RBCs and correlate them to the effect of RHA properties.

1. Introduction

Human Red Blood Cells (RBC) are highly differentiated cells that have lost all organelles and most intracellular machineries during their maturation process. RBC are key cells in the body's respiratory system by being responsible for the oxygen transport to all cells and tissues, and delivery of carbon dioxide to the lungs. RBC present a characteristic biconcave shape and a diameter of 8 micron and a thickness of 2 microns (Figure 1).[1] and they are capable to deform in order to travel through all blood vessels including very small capillaries due to their flexible structure.



Figure 1. Anatomy of a Red blood cell: A. sectional view of a mature RBC, showing the normal ranges for its dimensions; B. table resuming dimensions and average lifespan of a RBC.

The RBC membrane proteins control their mechanical strength and elastic deformability. Its structural organization enables the RBC to undergo large-scale rapid and reversible deformations while maintaining its mechanical integrity during its circulatory life span. [2]

Rare haemolytic anaemias (RHA) are a group of disorders highly heterogeneous in both the molecular defects underlying and the range of severity of clinical manifestations, from very mild forms of fully compensated haemolysis to chronic blood transfusion dependent haemolytic anaemia. RHA include membrane disorders, red blood cell enzyme disorders, congenital dyserythropoietic anaemias, thalassemia syndromes, and hemoglobinopathies. [3]

RHAs are characterized by haemolysis, loss of RBC, mainly in the spleen, compensated by an increase of the RBC production in the bone marrow (erythropoiesis) mediated by an increased level of erythropoietin secreted by the kidney in response to cellular hypoxia. The balance between haemolysis and erythropoiesis determines the severity of the disease. [4]

The spleen is the organ responsible to remove old and defective RBCs from blood circulation. The spleen consists mainly of two regions: the white pulp with immunological function and the red pulp, which has the

72

filtering function. The red pulp is composed of a splenic cord and venous sinuses system. Approximately the 10% of the blood entering the spleen flows into the open circulation. Here the RBCs are driven into venous sinuses of the red pulp. The splenic cord consists of reticular fibres and macrophages, active in removing erythrocytes.[5]

As altered RBC are prematurely removed by the spleen due to its loss of deformability or the action of splenic macrophages, splenectomy is one possible therapeutic approach to the management of severely affected patients [6]. However, besides its demonstrated efficacy in the management of hereditary spherocytosis, response to splenectomy is highly variable in patients affected by other types of RHA, which may range from a complete compensated haemolysis (blood transfusions independence) to almost no response. [7] Therefore, evaluation of the spleen function based on quantification of RBC mechanical properties may play a key role in the prognosis and morbidity of RHA patients.

Previous works in our group on spleen artificial models were published [8], showing change on RBC mechanical properties infected by the malaria parasite. In our current work, fresh blood from healthy donors and affected patients were evaluated using a filtering unit on a chip. Here we present the preliminaries results obtained by the analysis of the video recorded from healthy donor's samples to validate our approach. As we mentioned previously, filtering function on spleen takes place on the red pulp, rendering only 10% of the blood sample. In order to increase the amount of sample processed, a filtering unit on a chip was designed and fabricated (Figure 2). Recorded videos were analysed, and RBCs track analysis were performed to calculate the time a RBC needs to cross the filtering microconstruction (T-crossing) and the time this RBC needs to restore its original shape after passing (T-Restore). Evaluating the rheological features using a microfluidic device analysis will provide information about the different characteristics of RBCs from different types of RHA, as sickle cell disease, membranopathies or enzymopathies adding essential knowledge regarding the mechanical properties of RBCs.

2. Methods

2.1. RBCs collection and dilution

Peripheral blood samples from healthy donors ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) for our experiments. Samples were stored at $+4^{\circ}C$ and analysed within 48 hours after their collection.

Packed RBCs were isolated from whole blood. RBCs count from CBC (complete blood count) parameters were considered to calculate the volume of whole blood needed in order to set the amount of RBCs to a same value for each experiment. The correspondent amount of whole blood was centrifuged at 0.4 rcf for 5 minutes at $+4^{\circ}$ C. After removing buffy coat and plasma, packed RBCs were resuspended and washed in physiological serum (0.9% NaCl). After centrifugation, supernatant was removed, and packed RBCs re-suspended in 1 mL of physiological serum. Our working solution consist of physiological serum containing 1% BSA, 0,25% of 0,25M EDTA and 15% of glycerol (Sigma Aldrich). Finally, filtered working solution containing 1% of re-suspended packed RBCs was prepared.

2.2. Filtering unit on a chip fabrication

PDMS prepolymer mixture was used (Silicone elastomer diluted 10:1 with a crosslinker) as material for chip fabrication. In order to remove bubbles, PDMS was placed in a desiccator with applied vacuum. The mixture was poured on top of the master to replicate the network of microchannels in a PDMS microchannel layer, and left at 65 °C for 4 hours. Casted PDMS was peeled off and inlet and outlet holes made using a 5 mm puncher.

PDMS was sonicated in ethanol for 5 minutes while glasses were cleaned using in sequence distilled water (dH2O) and soap, acetone, ethanol and isopropanol. After drying, PDMS and glasses were exposed to O2 plasma, immediately pressed together and heated at 140 °C for 10 minutes to form a permanent bond.

Before every assay, in order to activate the microfluidic device, it was exposed to UV/ozone for 15 minutes and filled with filtered 0.9% saline solution.



Figure 2. A. spleen filtering unit chip designed. B. zoom out of filtering slits fabricated using standard photolithography and soft-lithography techniques. The spleen filtering unit on a chip presents funnel-shaped constriction, mimicking the microvessels of the spleen.

2.3. Experimental set-up

The experimental set-up consists of a Precision Pressure Control System (P2CS, Biophysical Tools GMBH) to regulate the flow pressure in the microfluidic device. Pump and microfluidic chip were connected by flexible plastic tubing (Tygon) at the inlet hole (Figure 3).

Experiments were performed at room temperature and a constant pressure of 100-150 mBar was applied.

Optical inspection for experiments were performed using a microscope (Zeiss) and an axiocam 503 mono camera (Figure 3). While RBCs perfusion through a filtering unit on a chip, several movies were recorded for analysis.



Figure 3. Experimental set up. The filtering unit on a chip is placed on the stage of a microscope (Zeiss) equipped with an axiocam 503 monocamera. RBCs working solution is perfused in the chip using a Precision Pressure Control System connected at the chip by a flexible tubing (Tygon)

2.4. Tracking analysis

Recorded videos were analysed frame by frame in order to perform RBCs track analysis (Figure 4A) and to calculate T-crossing and T-Restore. <u>Cell tracking were performed by</u> proprietary software Cell-Hunter [9-11] modified with <u>direction constraint.</u> As stated at the introduction, Tcrossing is the time an RBC needs to cross the filtering funnel-shaped constriction (Figure 4B). During crossing the barrier, cells change their shape, but cells take time to restore their original shape (T-Restore). These times can be quantified.

Change in shape during barrier can be quantified by using Eccentricity as index (Equation 1).



Equation 1. Change in shape during crossing can be quantified by Eccentricity

Consequently, it is possible to calculate the time the RBCs needs to recover its shape (T-Restore) (Figure 4C). By automatically thresholding eccentricity signal during the time, T-Restore can be extract as the time in which eccentricity remains at a higher value (Figure 4D).Figure 4D shows a same RBC flowing in the spleen filtering unit in different frames of the same video. The green circles represent original shaper for RBC, while yellow selection mark frames for a RBC while crossing the barrier and so the frames taking into account for the quantification of the T-Restore. Red RBC inside yellow selection indicates the number of frames used for the calculation of T-crossing.



Figure 4. Fresh blood from healthy donors and affected patients are being evaluated using the spleen filtering unit on a chip. A. RBCs track analysis is performed to calculate: B. T-Crossing and C. T- Restore

T-restore (Figure 4C) is on average larger than T-crossing (Figure 4B) since cells have a given inertia to restore their shape.

3. Results

3.1. Optimal solution for experiments

The small height of the spleen filtering unit on a chip as well as the changes on physiological solution can cause osmotic stress on RBC, which may result in the formation of artefacts called echinocytes (RBCs with an abnormal cell membrane characterized by many small projections as urchin) [12].

Different solutions, chip coating and RBCs dilutions were tried in order to optimize the experimental setting, to obtain a clean chip and to avoid the formation of echinocytes. the optimal working solution we found for our experiments was revealed to be physiological serum containing 1% BSA, 0,25% of 0,25M EDTA and 15% of glycerol. Figure 6B shows how our filtering chip unit was clean, and the percentage of echinocytes is very low) using this solution. While our chip appeared full aggregations with the other solutions, probably composed by RBCs and reagents particles, as well as of many echinocytes (Figure 5A).



Figure 5. Optical microscope images showing the formation of echinocytes and aggregations of particles and RBCs obtained before the optimization of our working solution A. Optical microscope images showing spleen filtering unit status after the optimization of our working solution B

3.2. Tracking analysis

Shape feature such as eccentricity is a clear indicator of cell deformability during barrier crossing as indicated by the distributions, shown in the graph of figure 6.

Eccentricity, as well as speed distribution, result almost indistinguishable before and after crossing for healthy donors. This indicates the capability of the cell to return to the initial morphological state.



Figure 6. Diagram of eccentricity distribution. T-test has been performed with Bonferroni's correction

4. Conclusions

A spleen filtering unit was designed, and preliminary results show that it is possible to model RBCs features analysing differences on healthy donors. Eccentricity is a clear indicator of cell deformability during barrier crossing and relevant index for the calculation of tracking analysis. T-Crossing and T-Restore show to be valuable parameters to evaluate the behaviour of a RBCs passing through our spleen filtering unit. RHA affected patients' sample are being analysed through our chip. Obtained results will be compared with the results obtained from healthy donors' samples.

Acknowledgments

Authors thank Montserrat Prieto Grueso, Sara del Pino Martinez for technical support. This project is funded by the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme through the RELEVANCE project under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 675115 and the Spanish Ministry of Science through the following grant RTI2018-097038-B-C21.

References

- [1] Huisjes R, Bogdanova A, van Solinge WW, Schiffelers RM, Kaestner L, van Wijk R. Squeezing for life - Properties of red blood cell deformability. *Front Physiol*. 2018;9(JUN):1-22. doi:10.3389/fphys.2018.00656
- [2] Narla J, Mohandas N. Red cell membrane disorders. International Journal of Laboratory Hematology. 2017;39:47-52.
- [3] Sans-Sabrafen J BRC, Vives Corrons JL. Hematología Clínica. 5a ed ed. Madrid: Elsevier; 2008.
- [4] Vives Corrons JL MPM, Romeo-Casabona C, et al. . ENERCA: recommendations for centres of expertise in rare anaemias - a White book: Produg Multimedia; 2014.Doarn CR, Adilova F, Lam D. Review of telemedicine in Uzbekistan. Journal of Telemedicine and Telecare, vol 11, sup 3, 2005, pp 135-9 (ISSN: 1357-633X).
- [5] Pivkin I. V., et al. Biomechanics of red blood cells in human spleen and consequences for physiology and disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Jul 12; 113(28): 7804–7809.
- [6] Aizawa S, Kohdera U, Hiramoto M, Kawakami Y, Aisaki Ki, Kobayashi Y, et al. Ineffective erythropoiesis in the spleen of a patient with pyruvate kinase deficiency. American Journal of Hematology. 2003;74(1):68-72
- [7] Iolascon A, Andolfo I, Barcellini W, et al. Recommendations regarding splenectomy in hereditary hemolytic anemias. Haematologica, 2017Aug;102(8):1304-1313. doi: 10.3324/haematol.2016.161166. Epub 2017 May 26.
- [8] L.G. Rigat-Brugarolas, A. Elizalde-Torrent, M. Bernabeu, M. De Niz, L. Martin-Jaular, C. Fernandez-Becerra, A. Homs-Corbera, J. Samitier, H.A. del Portillo A functional microengineered model of the human splenon-on-a-chip. Lab on a chip. 2014 May 21;14(10):1715-24. doi: 10.1039/c31c51449h. Epub 2014 Mar 24.
- [9] Parlato, Stefania, et al. "3D Microfluidic model for evaluating immunotherapy efficacy by tracking dendritic cell behaviour toward tumor cells." *Scientific Reports* 7.1 (2017): 1093.
- [10] Biselli, Elena, et al. "Organs on chip approach: a tool to evaluate cancer-immune cells interactions." *Scientific Reports* 7.1 (2017): 12737.
- [11] Nguyen, Marie, et al. "Dissecting Effects of Anti-cancer Drugs and of Cancer-associated Fibroblasts by On-chip Reconstitution of Immunocompetent Tumor Microenvironments." (2018).
- [12] Walker HK, Hall WD, Hurst JW. Chapter 155Peripheral Blood Smear. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990.

Preliminary glycerine tests using Quartz Crystal Resonator based biosensor for medical diagnosis

A. Miranda Martínez¹, M. X. Rivera González¹, M. Zeinoun¹, L. A. Carvajal Ahumada², J. J. Serrano Olmedo^{1,3}

¹ Centre for Biomedical Technology (CTB), Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Madrid, España, {andres.miranda, marco.rivera, michael.zeinoun}@ctb.upm.es

² Faculty of Engineering and Basic Sciences, Universidad Central, Bogotá, Colombia, luis.carvajal@ctb.upm.es

³ Networking Research Centre of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Madrid, España, josejavier.serrano@ctb.upm.es

Abstract

Quartz Crystal Resonators are devices with a high capabilities in sensing systems due to their accuracy, efficiency and low cost. In this work we present a prototype of biosensor based on the use of QCR to measure the viscosity of small samples of biological fluids and their corresponding preliminary tests with a common Newtonian fluid such as the mixture of glycerine with water, in order to observe the measuring capacity of the prototype. These measurements were compared with a professional viscometer to observe the similarity between both measurement methods. As the device is calibrated and adapted, in the future it may be used to measure biological fluids for medical diagnostic purposes.

1. Introduction and objective

Quartz crystal resonators (QCR) are piezoelectric elements that generate a sinusoidal signal at a specific frequency with high precision, inversely, when excited with a sinusoidal signal at that resonance frequency their impedance will reach a minimum value. These properties allow QCR to have applications in the field of biomedicine [1], one of its main uses is as a microbalance (Quartz Crystal Microbalance) allowing to detect very small masses such as cells or tiny objects of this nature.

According to Sauerbrey [2], when the crystal is in contact with a mass (solid film) its resonance frequency changes according equation 1. On the other hand, if the crystal is in contact with a fluid, Kanazawa et al. [3] exposed the relation shown in equation 2.

$$\Delta f = -\frac{2f_0^2}{A\sqrt{\rho_q G_q}}\Delta m \tag{1}$$

$$\Delta f = -\sqrt{n} f_0^{3/2} \sqrt{\frac{\rho_L \eta_L}{\pi \rho_q G_q}} \tag{2}$$

Where A is the piezoelectrically active area of the crystal, ρ_q and Gq are the specific density and the shear modulus of quartz respectively, f0 is the fundamental resonance frequency of the quartz, ρ_L is the density of the fluid, η_L is the viscosity of the fluid and n is the overtone number (we are using fundamental frequency, thus n =1).

Equation 2 bring the capability to determine viscosity observing the resonance frequency deviation, thus, QCR

can also be used to determine the viscosity of biological fluids. This offers many advantages as they require a smaller amount of sample which adds to its simplicity, accuracy and efficiency. For this reason we proposed a prototype based on QCR capable of measuring viscosity using a small amount of sample (50 μ l approximately) by measuring the displacement of the resonance frequency which occurs when the sample is placed in contact with the crystal.

With this prototype it will be possible to measure the viscosity of biological fluids for medical diagnosis, for example, synovial fluid, since the viscosity is a factor in diagnosing diseases such as osteoarthritis or arthritis [4, 5].

On a first stage, we must make sure that the device is capable of measuring viscosity. For this purpose, tests were developed to measure the viscosity of a Newtonian fluid such as a mixture of vegetable glycerine with distilled water.

2. Materials

The prototype consists of a series of electronic components, one of which is a DDS module which generates the sinusoidal signal that excites the QCR. Also operational amplifiers and digitally controlled potentiometers are used with the aim of provide an amplification stage at the entrance of the crystal and on the sensing ports.

The part of control and data acquisition is achieved using an Arduino DUE card and LabView software. Two frequencies are established close to the resonance frequency of the crystal to perform a sweep where for each frequency will be obtained the values of voltage, current and susceptance which are used to obtain the conductance curve, thus, the resonance frequency at a maximum of conductance (f_s), necessary to calculate viscosity.

The QCR were purchased form Quartz Pro (Jarfalla, Sweden; <u>http://www.quartzpro.com</u>). Crystals (figure 1) have the fundamental resonance frequency at 10 MHz, gold electrodes on both sides with 5 mm of diameter.



Figure 1: Quartz Crystal

One Crystal Holder was printed on 3D with aim on have the QCR on a static and stable position, and to have the entrance where the sample will be pipetted.

The whole system can be observed on figure 2. The QCR biosensor is powered by a power supply with $\pm 9 \text{ v DC}$, an external part, where the crystal is placed (crystal holder), is derived from the circuit, and finally, it is controlled through the Arduino Due card and Lab View software.

On the other hand, some samples of vegetable glycerine diluted in distilled water with concentrations of 0, 10, 20, 30, 40 and 50% were made in order to make the measurements with this fluids.



Figure 2: QCR based biosensor system

3. Methods

For every mixture of glycerine with water, a small quantity of sample was taken (50 $\mu l)$ in order to measure its viscosity.

First, the crystal without sample was measured to obtain a first frequency (f₀) value, frequency at maximum conductance. Then, the sample with its respective volume and concentration of glycerine is pipetted on the crystal to obtain a second frequency value (f_s) which will be shifted in frequency. With this two values we can now calculate ΔF (frequency displacement due to a sample on the crystal), since $\Delta F = f_s - f_0$. Both, f_s and ΔF are the parameters that are used when viscosity is calculated as observed in equation 2.

To start the system, all the control settings are stablished in Lab View code. First we establish the resonance frequency of the crystal, then, the frequency limits where the sweep and measurements will be made. Finally, the number of cycles that we want to be repeated is set, this in order to obtain various values of the same sample that will be averaged at the end.

At the end of the process, the crystal is rinsed with ethanol 70% and deionized water in order to clean the surface of the crystal.

4. Results and discussion

The capability of the prototype to measure the variation of viscosity was demonstrated, since the measured points taken of each mixture of glycerine are related with the increase of the viscosity.

Viscosity measurements were obtained for each of the mixtures. These measurements were compared with a professional Fungilab viscometer to compare the tests performed. The values obtained can be seen in table 1 and the corresponding graph is shown in figure 3.

Observing figure 3 it is clearly observed that the trend in viscosity measurements using the QCR biosensor is similar to that of the measurements with the Fungilab viscometer. On the other hand, in Figure 4 it is shown that as the product of $(\rho_{L^*} \eta_L)^{\wedge}0.5$ increases, the frequency deviation increases linearly, which means that the system is able to detect the variations of the product density-viscosity.

Glycerine concentration [%]	Density [g/ml]	QCR biosensor Viscosity [mPa*s]	Fungilab Viscosity [mPa*s]	Absolute error [mPa*s]
0	1	2,33	1	1,33
10	1.045	3,19	1,44	1,75
20	1.08	4,33	1,7	2,63
30	1.105	6,39	2,4	3,99
40	1.134	10,74	3,9	6,84
50	1.15	21,5	6,7	14,8

Table 1: Viscosity measurements with QCR biosensor and Fungilab viscometer



Figure 3: Viscosity measurements using QCR biosensor and Fungilab viscometer



Figure 4: ΔF behaviour for higher concentrations of glycerine

The resulting viscosities have higher values compared to the professional viscometer. This can be due to several factors such as temperature, vibrations in the device or noise in the acquired signals. Since the QCR is working as a microbalance, the main factor that affect viscosity measurement is the mass of the sample since frequency deviation is also affected by mass deposition (equation 1).

The important thing to emphasize is that the device is able to detect viscosity variations in the same way that the Fungilab viscometer does, for future work it is very important to study and determine separately both effects (mass deposition and viscosity) on fluids measurements, furthermore it will be necessary to properly calibrate the system so that the measurements are adjusted. Also, tests with other types of fluids (Newtonian and non-Newtonian) should be made.

Acknowledgements

To CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Teconlogía) from México.

References

- Nwankwo, E.; Durning, C. Mechanical response of thickness-shear mode quartz-crystal resonators to linear viscoelastic fluids. Sensors Actuators A Phys. 1998, 64, 119-124.Doarn CR, Adilova F, Lam D. Review of telemedicine in Uzbekistan. *Journal of Telemedicine and Telecare*, vol 11, sup 3, 2005, pp 135-9 (ISSN: 1357-633X).
- [2] Sauerbrey, G. Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung düner Schichten und zur Mikrowägung. Zeitschrift für Physik 1959, 155, 206-222.
- [3] Keiji Kanazawa, K.; Gordon, J.G. The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with liquid. Anal. Chim. Acta 1985, 175, 99–105.
- [4] Denton, J. Synovial fluid analysis in the diagnosis of joint disease. *Diagn. Histopathol.* 2012, 18, 159-168.
- [5] Stafford, C.; Niedermeier, W.; Holley, H.; Pigman, W. Studies on the concentration and intrinsic viscosity of hyaluronic acid in synovial fluids of patients with rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 1964, 23, 152-157.

NewGenHT - New generation of magnetic hyperthermia devices: application for cancer treatment.

M. Zeinoun^{1,2}, M. Rivera Gonzalez¹, A. Miranda Martinez^{1,2}, A. Angulo Llorente^{1,2}, P. Sánchez

Mercado^{1,2}, M. Ramos^{1,2}, J. Serrano Olmedo^{1,2}

1 Centre for Biomedical Technology (CTB), Universidad Politécnica de Madrid (UPM),

Campus de Montegancedo, 28223, Pozuelo de Alarcón, Madrid, Spain.

2 CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Spain.

michael.zeinoun@ctb.upm.es, marco.rivera@ctb.upm.es, alexangulo03@gmail.com, patricia.sanchez.mercado@gmail.com upm.es, milagros.ramos@ctb.upm.es, josejavier.serrano@ctb.upm.es.

Abstract

Conventional Hyperthermia method is a promising cancer treatment, but it is still limited by various aspects, one of them is the aggregation of nanoparticles once placed inside the organism. So, in order to increase the efficiency of the treatment, and since the increase of nanoparticle concentration is out of the question, we decided to search for a new and more effective signal that will allow the enhancement of the nanoparticle's heat generation. Hence, our objective is to develop a prototype that generates 5 different signals and study the interaction of magnetic nanoparticles with signals other than conventional sinusoidal signals.

1. Introduction

Magnetic hyperthermia is a modern method aimed to selectively target cancer cells by raising the surrounding temperature to 43° - 45°C causing cancer cell damage due to their low resistance to heat [1],hence cell destruction by apoptosis necrosis, and leaving normal cells intact due to their high resistance to heat[2]. To achieve that, nanoparticles are injected in the same medium as the cancer cells and an external electromagnet is placed, creating a high frequency (>100Khz) alternating magnetic field, which results in the rotation of the nanoparticles, and/or their magnetic moment, based on Neel and Brownian relaxation phenomena [1], resulting in heat generation.

However, conventional methods have faced limitation inside the living system, due to the incapability of increasing nanoparticle concentration which will result in particle aggregation hence in severe particle efficiency [3][4]. This limitation is not found *in Vitro* studies because particle there are dispersed contrary to the case of *in Vivo* [2][3]. So, we aim to create a new equipment that generates a new type of signals, that will achieve the temperature rise of the nanoparticle more efficiently without the need of increasing particle concentration.

Our aim is to change the conventional hyperthermia sinusoidal output signal and move towards signals with a permanent state, such as square and trapezoidal signals. So, we created a prototype that generates 5 different signals having 5 different slope angles in transient state and 5 different permanent state width.

2. Materials and Methods

The system we are developing is divided to a High power and Low power parts.

High-Power: A regular DC to AC bridge inverter, consisting on 4 MOSFETs, working diagonally with the alternating magnetic field electromagnet found in the middle. The MOSFETs are set to work diagonally in the purpose of generating an AC output signal, hence an alternating magnetic field. If we consider the inverter in figure 1, we can see that the voltage across the load is equal V and -V when respectively S1/S4 and S2/S3 diagonally positioned MOSFETs are switched on, which is why when the load voltage positive the cycle is called positive half cycle and when it is negative it is called negative half cycle. Meanwhile Load Voltage is equal to 0 in case S1/S3 and S2/S4 MOSFETs are on due to the short circuit that would result in the circuit.



Figure 1. DC to AC inverter mechanism

Now, as for the output signals shape, it is achieved by the variation of the active times of diagonally placed MOSFETs, where the diphase between the turn on period of the positive half cycle or negative half cycle MOSFETs shapes the load output signal, as seen in figure 2, hence the shape of the alternating magnetic field created.



Figure 2. MOSFET diphase effect on output signal

The MOSFETs chosen to possess a high frequency functioning characteristic, where the Gate opening and closing time is compatible with the circuit's frequency, in other words, the MOSFETs that should not be active at the same time will never have their gate closing duration overlapping with other's gate opening time.

Low-Power: A High frequency PWM signal generator, STM32F446RE, which generates 4 signals, one to each MOSFET found in the power circuit part. A small dead time is introduced to prevent the active time overlapping of high and low side MOSFETs, as seen in figure 3.



Figure 3. Dead time between active periods of High and Low MOSFETs

As previously mentioned, the device is set to generate 5 different types of signals:

- Square
- Square trapezoidal
- Trapezoidal
- Triangular trapezoidal
- Triangular.

Square, Trapezoidal and Triangular signals are considered main signals whereas the other two are considered intermediate signals. We included the intermediate signals in our study because of the big gap in both slope angle and steady state width of the main signals, so it is seen interesting to study the intermediate values as well, to better understand the effect of these 2 factors on nanoparticle behavior. To acquire these signals, a certain diphase is introduced between the generated signals, and the variation of this diphase gave us all 5 main and intermediate signals. The STM32F446RE is also used to acquire and plot the current flowing thru the electromagnet in addition to the calculation of the magnetic field value. The current is measured using a current sensor that can detect high frequency AC current, and a simple calibration formula is needed to convert the receiving voltage signal onto corresponding current value, whereas the magnetic field is a developed formula, for multi-wire Litz type electromagnets[5]. The equation, as seen in equation 1, has only the current as an unknown value, which is measured and given in real time by the current sensor, hence the real time magnetic field is given to us by:

$$B(z) = \frac{\mu IN}{2L(r_1 - r_2)} \times \left[\left(\frac{L}{2} - z \right) \right]$$
$$\times ln \frac{r_2 + \sqrt{\left(\frac{L}{2} - z \right)^2 + r_2^2}}{r_1 + \sqrt{\left(\frac{L}{2} - z \right)^2 + r_1^2}}$$
$$+ \left(\frac{L}{2} + z \right) \times ln \frac{r_2 + \sqrt{\left(\frac{L}{2} + z \right)^2 + r_2^2}}{r_1 + \sqrt{\left(\frac{L}{2} - z \right)^2 + r_1^2}} \right]$$

Equation 1. Litz Electromagnet magnetic field calculation formula

Since the STM32F446RE generates only 3.3V PWM signals, a amplification is needed in order to be able to activate the MOSFET gate, this is called a gate driver, which is usually isolated in order to separate the digital part from the analog part of the low power circuit, in this circuit the isolation is optical.

The high-power part is supplied by a HP-Agilent 6032A 1500W Power supply where as low-power part is supplied by a regular 220AC to 15V power supply.

As we mentioned before, the electromagnet used is a home-made Litz wire, seen in figure 4, which was used in previous studies made by our laboratory as well[6], which is a cable made out of a group of wires swathed in sheathing in the purpose of reducing the skin effect [5] of high frequency signal going thru it hence affecting the strength of the alternating magnetic field. Of course, the home-made inductor used will be enhanced and upgraded as we get forth in experiments, especially when we start experimenting *in Vivo*, but as for now the current model is satisfying for the experiments and optimization in hand.



Figure 4. The home-made Litz wire which will be used

3. Results

We have successfully built and generated the 5 designated signals at frequencies varying from 100 to 1000Khz, and as seen in figure 5, the slope variation and permanent state width are clearly visible, whereas in figure 6 we can see the board used for this study.



Figure 5. Main Signals a. Triangular b. Trapezoidal c. Square



Figure 6. First Prototype design

To control the Nucleo STM32F446RE card, a C# software was developed, seen in figure 7, to be able to variate the signal shape and frequency in addition to the plotting of current, magnetic field and temperature values.

	н	rm – 🗆 🗾
Refresh Ports	COM3 V Disconnect	Temperature
		Temperature = 33°C
Frequency (KHz)	100 🗸	Current = 1.931A
Waveform	Square V	
		Magnetic Field = 0.000413Teslas
	Configure	
Start	Stop	

Figure 7. C# control/measurement application

While conducting tests, the output scored a 40A peak-topeak at triangular signal at 60V DC input, and here we should note that the larger the overlapped active mode zone between the half cycle MOSFETs is, the less voltage it needs to increase the current of the circuit, for example if we go back to figure 2, if we have a fixed voltage supply for all the output signals at the same frequency, the triangular signal will score the highest current value since it is synchronized, where S1/S4 and S2/S3 are turned on for the longest amount of time possible, whereas the square wave will score the lowest current value because the diphase is maximum hence S1/S4 and S2/S3 are turned on for the shortest period of time possible. On the other hand, the current and the frequency are inversely proportional, in a way that the more for the same input voltage if we increase the frequency, we will notice a current drop in the system. The impedance curve of the system is seen in figure 8.



Figure 8. System's projected Impedance curve

The device is now in its final touches phase, and although it still has some issues like for example "gate ringing noise", due to the high frequency gate switching of the MOSFET, it is considered that in a short time the prototype will be ready and early next year will be conducting its first live cell experiments.

4. Discussion

Most of the experiments in magnetic hyperthermia field is conducted using a sinusoidal signal based alternating magnetic field, however the objective we placed; studying the effect of slopes and steady state time on nanoparticles, is based on the study conducted by Alejandra MINA ROSALES et. Al [7], concerning the effect of the slope variation at low intensities on the efficiency of nanoparticles, where the study proved that the presence of slopes and a permanent state in the signal creates an oscillation that raises the friction hence the efficiency of the treatment.

This work was then proceeded by Ana Lorena URBANO BOJORGE et. AI [8], where they tested the theory *in Vitro* with nanoparticles placed in water and found a 40% increase in efficiency of the therapy. The thermal power measurements are plotted in figure 9, which is taken from the original poster presented to the conference of Nanobioapp2015 titled "*Progress in the Development of a Device for Applications in Nanomedicine Through Magnetic Hyperthermia Therapy for Cancer Treatment*".



Figure 9. Thermal power with respect to frequency.

<u>Experiment A</u>	<u>Experiment B</u>
Frequency: 800 [KHz]	Frequency: 100 [KHz] – 1 [MHz]
Amplitude: 12 [App]	Amplitude: 7.4-7.6
Duty Cycle: 0% – 100%	Duty Cycle: 50%
Measures: 6	Measures: 9
Experiment C	
Frequency: 250[KHz] -	2 [MHz]
Amplitude: 12 [App]	
Slope: 30	
Measures: 6	

So, increasing therapy efficiency without raising nanoparticle concentration nor field intensity is our main objective, hence our aim presently is to exploit these new signals and study the effect of the slopes on the particle relaxation and temperature effect.

5. Conclusion

Now that the prototype is at an industrial level of functioning, and since theoretically and practically it was proven to be effective, the next step now is to conduct *in Vitro* experiments, using CT2A glioblastoma mice cells and MC3T3 mice osteoblast "normal" cells, and once the results are satisfying we will pass on towards *in Vivo* experiments, to test the validity of the theory in a live organism. As for the nanoparticles, the ones we are using standard superparamagnetic spherical Iron Oxide nanoparticles, however there are aims to try new types of

nanoparticle shapes, such as flower shaped, disk shaped, etc....

On the other hand, we aim to include a new nanoparticle delivery system, using macrophages that allows the nanoparticles to reach the tumor safely, because of their ability to traverse the intact Brain Blood Barrier (or BBB), and will be attracted by chemokines secreted by tumor cells, and all this without any harassment by the immune system. This method is also known as Tumor associated macrophages (or TAMs) also Trojan Horse method [9][10].

References

- S. Sant and B. Wang, "Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONS): Development, surface modification and applications in chemotherapy," no. February, 2011.
- [2] A. E. Deatsch and B. A. Evans, "Heating efficiency in magnetic nanoparticle hyperthermia," J. Magn. Magn. Mater., vol. 354, pp. 163–172, 2014.
- [3] E. I. Gkanas, "In vitro magnetic hyperthermia response of iron oxide MNP's incorporated in In vitro magnetic hyperthermia response of iron oxide MNP's incorporated in DA3, MCF-7 and HeLa cancer cell lines," *Cent. Eur. J. Chem.*, vol. 11(7), no. June, pp. 1042–1054, 2013.
- [4] Q. Zhao, L. Wang, R. Cheng, L. Mao, R. D. Arnold, and E. W. Howerth, "Magnetic Nanoparticle-Based Hyperthermia for Head & Neck Cancer in Mouse Models," *Theranostics*, vol. 2(1), no. January 2014, pp. 113–121, 2012.
- [5] C. R. Sullivan, R. Y. Zhang, C. R. Sullivan, and R. Y. Zhang, "Simplified Design Method for Litz Wire Simplified Design Method for Litz Wire," no. March, pp. 2667–2674, 2014.
- [6] O. Garcia *et al.*, "Development and Testing of a New Instrument for Researching on Cancer Treatment Technologies Based on Magnetic Hyperthermia \ M," *IEEE J. Emerg. Sel. Top. Power Electron.*, vol. 4, no. 1, pp. 243–251.
- [7] A. M. Rosales *et al.*, "Study of the Dependency of the Specific Power Absorption Rate on Several Characteristics of the Excitation Magnetic Signal when Irradiating a SPION-containing Ferrofluid," vol. 21, no. 3, pp. 460–467, 2016.
- [8] A. Urbano Bojorge et al., Progress in the Development of a Device for Applications in Nanomedicine Through Magnetic Hyperthermia Therapy for Cancer Treatment. 2015.
- [9] 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.
- [10] M. Rosaria, L. Pandol, M. Malatesta, M. Colombo, and L. Calderan, "Innovative approach to safely induce controlled lipolysis by superparamagnetic iron oxide nanoparticles-mediated hyperthermic treatment International Journal of Biochemistry and Cell Biology Innovative approach to safely induce controlled lipolysis by sup," *Int. Journal Biochem. cell Biol.*, vol. 93, no. October 2017, pp. 62–73, 2017.

Análisis del proceso de la Terapia Fotodinámica aplicada al glioma cerebral

R. de la Nuez Díaz, J. L. Arce-Diego, F. Fanjul-Vélez

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, <u>fanjulf@unican.es</u>, <u>arcedj@unican.es</u>

Resumen

moléculas de ciertos Las compuestos químicos (fotosensibilizadores) tienen la capacidad de absorber un fotón de luz visible y luego transferir la mayor parte de su energía absorbida a una molécula de oxígeno. Esto provoca un aumento transitorio en la reactividad química de la molécula de oxígeno y la convierte en un agente oxidante relativamente fuerte conocido como oxígeno singlete. La Terapia Fotodinámica o PDT (Photodynamic Therapy) utiliza el oxígeno singlete inducido por la luz para destruir las células al causar un daño oxidativo letal en estructuras biológicamente importantes, en nuestro caso tumores cerebrales, especialmente gliomas. En este trabajo trataremos de analizar los distintos niveles de tumores de gliomas para obtener resultados clínicos que puedan ser de ayuda a la hora de diagnosticar y tratar este tipo de enfermedad. El método que utilizaremos es la Terapia Fotodinámica mediante modelos predictivos de Monte Carlo para evaluar la radiación óptica almacenada en el tejido, elemento clave en el proceso. Para ello analizaremos imágenes médicas para poder generar un modelo clínicamente predictivo.

1. Introducción

tumores cerebrales representan una pequeña Los proporción de todos los cánceres (1,4%) y las muertes relacionadas con el cáncer (2,4%). Sin embargo, la mayoría de estos tumores son fatales, e incluso los tumores cerebrales benignos pueden interferir con las funciones cerebrales que son esenciales para la vida diaria. Debido a la mortalidad extremadamente alta, especialmente entre los pacientes diagnosticados con glioblastomas, y la morbilidad significativa debido a los tumores cerebrales, existe un interés cada vez más intenso en comprender la base de sus causas con el fin de diagnosticarlos y tratarlos adecuadamente [1]. En este trabajo se desarrolla un modelo predictivo para aplicar la Terapia Fotodinámica al tratamiento y seguimiento del diagnóstico de dichos tumores. En primer lugar, se describen los gliomas, a continuación, la técnica empleada para la obtención de imágenes médicas y, por último, se describe el proceso fotodinámico y se presentan las conclusiones.

2. Gliomas

Los tumores astrocíticos o gliomas abarcan una amplia gama de neoplasias que difieren según las características morfológicas, la ubicación dentro del sistema nervioso central, el potencial de crecimiento, el grado de invasividad, la tendencia a la progresión y la distribución por edad y sexo. Los gliomas son un tipo de tumor que se genera a partir de las células glicoles que recubren el sistema nervioso cerebral y espinal. La evidencia creciente sugiere que estas diferencias reflejan el tipo y la secuencia de las alteraciones genéticas adquiridas durante la carcinogénesis.

Se han observado varias anomalías cromosómicas en los astrocitomas. Se han reportado mutaciones en el gen p53 en el 40% de los tumores astrocíticos de todos los grados y ocurren principalmente en adultos jóvenes en lugar de niños, ver Figura 1. La eliminación de copias y reordenamientos del gen p16 son comunes en los astrocitomas de alto grado, pero no en los de bajo grado. Las deleciones del cromosoma 10 (que alberga varios genes supresores de tumores) también ocurren comúnmente en tumores astrocíticos de grado superior. Se ha sugerido que el homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN), un gen supresor de tumores mutado en el 40% de los glioblastomas, es un promotor de la progresión del glioma de bajo grado a alto grado. Por último, se ha encontrado la amplificación de un alelo del receptor del factor de crecimiento epidérmico mutado (EGFR) en aproximadamente un tercio de los glioblastomas, pero está ausente en los astrocitomas de bajo grado.



Figura 1. Resonancia magnética de paciente detectado con glioma Astrocitoma pilocítico.

3. Análisis

Como podemos observar en la Figura 3, a partir de las resonancias magnéticas evaluadas (ver Figura 2) pudimos segmentar cada una de ellas para lograr pasar del plano de las imágenes a imágenes en tres dimensiones con una resolución bastante buena. Una vez segmentado el cerebro a partir de las imágenes de resonancia magnética, tenemos a nuestra disposición todo el volumen y en concreto la estructura que vamos a analizar.



Figura 2. Algunas de las imágenes de resonancia magnética empleadas para la segmentación tridimensional.



Figura 3. Imagen de cerebro de paciente de glioma cerebral seccionado a partir de imágenes de resonancia magnética.

Específicamente vamos a analizar tres estructuras distintas, que reflejarán el avance del tumor en el tiempo, aumentando el estadio del tumor. A estas tres estructuras las llamaremos fases, la fase 1, para el volumen más pequeño y así sucesivamente hasta la fase 3, que será el volumen de tumor más grande, ver Figura 4.



Figura 4. Distintos volúmenes de tumor seccionados a partir de imágenes de resonancia magnética.

Como se puede observar en la Figura 4 los volúmenes de estas estructuras no son homogéneos, lo que nos lleva a pensar que hemos identificado correctamente las tres estructuras tumorales. Además, este tipo de tejido presenta distintas propiedades ópticas (coeficiente de absorción, coeficiente de esparcimiento o *scattering*, anisotropía e índice de refracción) [2,3], y es por ello por lo que nos resulta mucha más cómodo de analizar y caracterizar. Distinguiremos su tamaño en función de la coordenada z, de modo que la estructura de fase 1, tiene una altura de 6 mm, la estructura de fase 2 una altura de 12 mm y la estructura de fase 3 una altura de 18 mm.



Figura 5. Energía absorbida por los tejidos cerebrales tomando como referencia 1 J/cm³ en tiempo estacionario de 50 ns. El rango empleado se muestra en dB, desde los 0 dB hasta 15 dB con respecto a la referencia inicial. La sección marcada en rojo en cada una de las imágenes representa la sección del tumor en cada fase de estudio.

4. Radiación óptica

Una vez conocemos que la concentración del fotosensibilizador es suficiente para que el proceso pueda continuar de forma óptima [4], nos encargaremos de la distribución óptica que se genera al radiar el tumor, fase vital para el proceso. En esta sección lo que intentamos es

simular el proceso por el cual la radiación óptica llega a cada uno de los tejidos, y la capacidad de estos de almacenar esta energía que será de vital importancia a la hora de eliminar la estructura tumoral.

Trabajando en el pico de absorción de este tipo de tejidos, 630 nm, la mejor forma de llevar la energía que necesitamos hasta el tumor es mediante una fibra óptica que colocaremos de manera estratégica en el centro del tumor debido a que va conocemos la posición exacta de la estructura que queremos eliminar. Se han estado realizando pruebas mediante radiación externa pero los niveles de energía almacenados eran insuficientes, de modo que para ser lo menos invasivos posibles tratamos de acortar lo máximo posible el recorrido de la fibra en el cerebro, ver Figura 5. Una vez situados, evaluamos la cantidad de energía absorbida por el tejido en un estado estacionario (emplearemos una referencia de t=50 ns) aumentando la energía de la fuente. Para estas representaciones nos será más visible el proceso si sólo observamos un plano de referencia.

Aplicando mayor nivel de energía (1J, 4J, 7J, 10J) desde la fuente podemos evaluar la irradiancia a la que están sometidos los tejidos y en especial las estructuras tumorales en estudio en la que centraremos las imágenes para poder distinguir posteriormente distintas regiones energéticas.



Figura 6. Sección de la estructura tumoral evaluada para cada uno de los niveles de energía de la fuente 1J, 4J,7J y 10J para la fase 1 de estudio.

En la figura 6, podemos apreciar que se distinguen 3 zonas con distintos niveles de irradiancias en la fase 1, en estos casos lo ideal sería que los niveles de energía fueran lo más homogéneos posibles, porque esto nos dirá qué zonas se eliminarán y qué otras no.



Figura 7. Sección de la estructura tumoral evaluada para cada uno de los niveles de energía de la fuente 1J, 4J, 7J y 10J para la fase 2 de estudio.

Contrario al caso anterior, en la figura 7 se pueden distinguir 4 zonas o regiones con distintos niveles energéticos. Hemos de destacar que el volumen está aumentando y con ello las zonas dentro de la sección, así que no es de extrañar que para la fase 3 como vemos en la Figura 8, ese número de regiones sea igual o mayor a las fases anteriores.



Figura 8. Sección de la estructura tumoral evaluada para cada uno de los niveles de energía de la fuente 1J, 4J,7J y 10J para la fase 3 de estudio.

Una vez recabados los datos de las distintas zonas, y sabiendo que para que se produzca la oxidación del tejido, en este caso, sólo nuestra estructura tumoral, esas regiones han de superar los $5 \cdot 10^{18} \frac{fotones}{cm^3}$ [5], de modo que siendo conservadores se elimine un 100% (necrosis) del tejido tumoral.

Como podemos apreciar en las figuras anteriores, todas aquellas regiones que estén por encima del umbral de decisión serán las regiones del volumen que necrosarán y por consiguiente serán eliminadas, mientras que las zonas o regiones que estén por debajo del umbral no serán eliminadas del todo y pueden ser un posible riesgo para futuras regeneraciones del tumor. También podemos apreciar que a medida que aumenta el volumen del tumor se van generando más regiones no expuestas y que a medida que aumentamos la irradiancia las regiones expuestas aumentan notablemente. Una cuestión que nos podría surgir sería, por qué no aumentamos la irradiancia hasta valores más altos y así garantizar que todas las regiones estén expuestas. La respuesta es la siguiente: a medida que aumentamos la irradiancia, no solo está concentrada en el tumor, sino que se propaga por todos los tejidos adyacentes, de modo que si aumentáramos estos niveles durante mucho tiempo podríamos causar daños irreparables a estos tejidos. Para garantizar que la necrosis sea efectiva se deben acumular como máximo 110 mW/cm^3 .

5. Conclusiones y análisis

Hemos de señalar que este tipo de tumores (gliomas) son uno de los más mortales que conocemos hoy en día, y de ahí su importancia a la hora de realizar este estudio. Los pacientes en fase 1, o en sus primeros estadios son más propensos a que su cáncer remita debido a que bajo el proceso de la terapia fotodinámica hemos observado que al aumentar el volumen del tumor iban apareciendo zonas o regiones que no alcanzaban el nivel energético necesario para que se produjera la necrosis en el tejido. Además, uno de los puntos más importantes es la dosis de energía a la que sometemos al tejido, ya que emitiendo altos niveles de energía lo que conseguimos es elevar la temperatura del tejido llevando no solo al tumor a la extinción, sino que también a los tejidos adyacentes, y en el caso de los gliomas cerebrales es de vital importancia que exista la mayor precisión posible porque se podrían dañar funciones motoras y neuronales básicas. También es sumamente importante que la dosis de fotosensibilizador sea la correcta, ni muy baja ni muy alta, ya que, si nos pasamos a los extremos, o bien quedarían zonas sin sensibilizar, o habiendo tomado clínicamente un tiempo de referencia el fotosensibilizador podría estar adherido todavía a otros tejidos y órganos sanos, lo que implicaría su necrosamiento y por consiguiente un trastorno en el organismo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Modificación mediante alta presión de las propiedades plasmónicas y luminiscentes de nanopartículas de metales y óxidos desnudas y recubiertas" (PGC2018-101464-B-I00), del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

6. Referencias

[1] Monte, Franco del, y Mark R. Gilbert. Tumors of the brain and spine. 2015.

[2] A. N. Yaroslavsky, P. C. Schulze, I. V. Yaroslavsky, R. Schober, F. Ulrich, and H.-J. Schwarzmaier. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range. 2002.

[3] Custo, A. Effective scattering coefficient of the cerebral spinal fluid in adult head models for diffuse optical imaging. 2006.

[4] Fanjul-Vélez, F., J. L. Arce-Diego, y I. Salas-García. «Photosensitizer absorption coefficient modelling and necrosis prediction during photodynamic therapy» Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2012: 79-86.

[5] Salas-García, Fanjul-Vélez, y Arce-Diego. «Spatial photosensitizer fluorescence emission predictive analysis for photodynamic therapy monitoring applied to a skin disease.» Optics Communications, 2012: 1581-1588.

Evaluación biomecánica de la función residual del miembro superior tetrapléjico tras cirugía de trasposición tendinosa deltoides posterior a tríceps braquial. Estudio de dos casos.

E. López-Dolado¹, J. Espino², M. Alcobendas Maestro¹, V. Lozano Berrio³, A. Gil-Agudo^{1,3}, A. de los Reves-Guzmán³.

¹S^o de Rehabilitación, Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo (Spain). ²S^o de Cirugía Plástica, Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo (Spain). ³Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo (Spain).

Abstract

Biomechanical tools demonstrate aspects of motor control not easily visible with clinical tests, especially in patients with severe and complex central nervous system damage. In cervical spinal cord injured patients, upper limbs strength is affected to a greater or lesser extent, producing dependence on the execution of activities of daily living (ADLs). Restoration of elbow extension is a major functional goal of tetraplegia surgery. Tendon transfers are surgical procedures aimed to improve functional independence related to upper limbs motor behavior. Particularly, posterior deltoid to triceps tendon transfer has shown to be of use to improve the position of the hand during the ADLs. The objective of the present work is to present the biomechanics methodology of upper limbs applied to the functional result measurement of tendon transfer surgery on the upper limbs of cervical spinal cord injured patients. We present two case reports: two chronic traumatic C5 AIS A adult patients, a male and a female, that received a deltoid to triceps tendon transfer to improve elbow extension range of movement. After the surgery plus an intensive rehabilitation program, while clinical tests showed only subtle changes in both of them, upper limb kinematic analyses showed a very different behavior between them, that was in accordance of the variation of independence measurements and with subjective assessment of the procedure. So, biomechanical studies must be considered as reliable tools in some complex scenarios as the upper limb surgical treatments in cervical spinal cord injury patients, especially for complex or non-clear cases.

Keywords: biomechanics, kinematics, upper limb, deltoid to triceps tendon transfer, spinal cord injury.

1. Introducción

Aproximadamente el 60 % de las lesiones medulares traumáticas humanas afectan a los segmentos cervicales y de ellas, el 77 % de los casos son incompletas (NSCISC, Facts and Figures at a Glance. Birmingham 2018). Tras una lesión medular espinal cervical (LMEC) se producirán pérdidas preferencialmente en las neuronas involucradas en el control de los brazos. Los segmentos más frecuentemente dañados son, en orden decreciente, C5, C4 y C6. En todos estos casos se compromete el autocuidado, la independencia en las actividades de la vida diaria básicas (AVDs) e instrumentales y el uso del miembro superior como fuente de soporte accesorio en postura erecta (Peljovich et al., 2011). El tipo y grado de pérdida funcional en el brazo tras una LMEC dependen del nivel medular en que ésta se produzca y de su extensión en el sentido transversal y longitudinal. Existe una correlación anatomofuncional muy consistente, de

modo que cada segmento medular controla músculos específicos. Esta organización topográfica permite predecir el grado de dependencia que presentan las personas según el nivel de la lesión y los principales objetivos a recuperar para implementarla. Así, los pacientes con LMEC C5 y C6 conservan la flexión del codo, pero no la extensión por la desinervación del tríceps braquial (Kirchblum et al., 2002).

Fue en la década de 1970 cuando se empezó a plantear la cirugía como método de mejorar la función de la mano tetrapléjica. Actualmente el campo se ha desarrollado mucho, mejorándose los materiales y las técnicas quirúrgicas gracias a la introducción de nuevos conceptos derivados de la estimulación eléctrica funcional mediante sistemas implantables (Peljovich et al., 2011). Uno de los objetivos que se busca mejorar es la extensión del codo, pues no sólo es necesaria como soporte accesorio de carga antigravitatoria sino como prerrequisito para colocar adecuadamente el codo durante prácticamente todos los movimientos del brazo. El método quirúrgico universalmente utilizado para ello es la trasposición tendinosa deltoides posterior a tríceps braquial, pues existe consenso en que consigue grados variables de mejoría de la fuerza extensora y del recorrido articular de extensión del codo (Fridén et al, 2001).

Los estudios biomecánicos son una herramienta de gran valor para objetivar la ejecución de movimientos correspondientes a actividades funcionales de los miembros superiores. Son numerosos los trabajos realizados en población sana (Namdari, 2012; Murgia, 2010; Aizawa, 2010; van Andel, 2008; Petuskey, 2007; Murphy, 2006; Magermans, 2005). Posteriormente, estos estudios se fueron extendiendo para cuantificar objetivamente la capacidad funcional y rangos de movimiento articular en presencia de patologías neurológicas. En cuanto a estas enfermedades, las estudiadas con más frecuencia han sido el accidente cerebrovascular (ACV) (Kim, 2014; Murphy, 2013; Murphy, 2011; Osu, 2011; Lang, 2006) y la Parálisis Cerebral (Klotz, 2013; Butler, 2010). Todavía los estudios aplicados a la LM son escasos frente a los realizados en otras patologías. No obstante, existe un trabajo previo que revisa los estudios cinemáticos del miembro superior realizados en pacientes con LM (Mateo, 2015).

Actualmente, en nuestro grupo, el uso de estas herramientas está bien consolidado y establecido en pacientes con lesión medular. Sin embargo, no se tiene evidencia de estudios previos que utilicen las herramientas biomecánicas como ayuda a la indicación y/o evaluación del resultado de los procedimientos quirúrgicos del miembro superior tetrapléjico. Así, el objetivo de este trabajo es presentar la metodología biomecánica de los miembros superiores aplicada a dos casos de estudio, dos pacientes aparentemente muy similares en su presentación clínica a los que se les realizó una trasposición tendinosa deltoides posterior a tríceps braquial y que tuvieron resultados funcionales opuestos.

2. Material y métodos

Se trata de un estudio descriptivo, experimental de estudio de dos casos clínicos.

2.1. Descripción de los casos clínicos a estudio

Caso 1: Paciente mujer de 34 años aquejada de un síndrome de lesión medular C5 completo sensitivo-motor ASIA A (escala de la American Spinal Cord Injury Association) traumático crónico – dos años y medio de evolución en el momento de indicarse la transposición tendinosa- con un balance muscular de su miembro superior dominante a 5/5 en deltoides y bíceps braquial, a 2/5 en extensores del carpo y a 0/5 en tríceps braquial. La paciente era dependiente estricta para todas las AVDs, siendo su puntuación en la escala de independencia funcional para la lesión medular SCIM III de 31/100 inmediatamente antes de realizársele la trasposición deltoides posterior a tríceps braquial.

Caso 2: Paciente varón de 39 años aquejado de un síndrome de lesión medular C5 completo sensitivo-motor ASIA traumático crónico – nueve años de evolución en el momento de indicarse la transposición tendinosa- con un balance muscular de su miembro superior dominante a 5/5 en deltoides y bíceps braquial, a 2/5 en extensores del carpo y a 1/5 en tríceps braquial. Era también dependiente estricto para todas las AVDs, siendo su SCIM III de 32/100 inmediatamente antes de realizársele la trasposición deltoides posterior a tríceps braquial.

2.2. Análisis cinemático del miembro superior

Se analizó el movimiento de los miembros superiores intervenidos antes y después de la transposición tendinosa, con el fin de obtener datos objetivos y cuantitativos del control motor que permitieran una mejor comprensión del resultado quirúrgico en cada caso.

Se instrumentó a los pacientes con el equipo de fotogrametría Codamotion (Charnwood Dynamics, Ltd, UK) basado en marcadores activos, muestreando a una frecuencia de 200Hz. Los estudios cinemáticos del miembro superior se realizan simulando la AVD de beber de un vaso. El setup experimental y la configuración del laboratorio se describe en detalle en un trabajo previo nuestro realizado en población sana y en pacientes con LMC (de los Reyes-Guzmán, 2010). En ese estudio, todos los participantes eran diestros y realizaron el gesto de beber con el miembro superior derecho a velocidad libre. Sin embargo, en este trabajo se realiza el estudio cinemático sólo en el miembro superior que recibió la transposición tendinosa.

2.2.1. Sesiones experimentales

Las sesiones experimentales sobre cada miembro superior se realizaron una sola vez. El registro del movimiento se realizó con el mismo equipo de fotogrametría Codamotion (Charnwood Dynamics, Ltd, UK) basado en marcadores activos, muestreando a una frecuencia de 200Hz. En cada sesión se instrumentó el tronco y brazo cuyo movimiento se analiza con 21 marcadores de fotogrametría: 8 se ubicaron en prominencias óseas para formar el modelo biomecánico y los otros 13 se localizaron en clusters de marcadores para conocer la posición y orientación de los segmentos corporales durante el movimiento. Estos 13 marcadores se reparten de la siguiente forma: 9 repartidos en clusters de 3 marcadores ubicados en tronco, brazo y antebrazo; 3 marcadores en la parte dorsal de la mano sobre la piel y uno adicional en el tronco. Una vez instrumentado el paciente, La actividad analizada consistía en alcanzar y agarrar el vaso desde la posición de inicio, llevar el vaso a la boca, beber (equivalente a un trago), llevar el vaso al área marcada en la mesa y volver a la posición de inicio. Antes de registrar el movimiento todos los sujetos realizaron la actividad dos veces a modo de aclimatación. Se capturaron y analizaron 5 registros válidos.

2.2.2. Procesamiento de los datos y variables analizadas

Para el procesamiento de los datos se utilizó el software Visual3D (C-Motion, Inc, USA) en el que se implementó un programa de tratamiento y procesamiento de la señal encargado de obtener las señales del movimiento de las distintas articulaciones involucradas (hombro, codo y muñeca). La frecuencia de muestreo era de 200Hz. Se analizaron cinco registros y la media de las cinco medidas fue el valor final para cada una de las variables analizadas.

Para el análisis cinemático del miembro superior derecho, se implementó en Visual3D un modelo biomecánico de 9 grados de libertad: 2 en el tronco, 3 en el hombro, 2 en el codo y 2 en el carpo. Para cada segmento del modelo se definió un sistema de coordenadas local siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Biomecánica (ISB) (Wu, 2005) (Fig.2). De la mismaforma se implementó el modelo para analizar el movimiento del miembro superior izquierdo. En cada uno de los registros se identificó un ciclo completo de la actividad de beber. Se consideró que el inicio del ciclo se correspondía con el inicio del desplazamiento del marcador situado en la cabeza del tercer metacarpiano y el final de dicho ciclo cuando ese marcador se volvía a situar en la posición inicial tras realizar la actividad. Basándonos en estudios previos (Murphy, 2006; de los Reyes-Guzmán, 2010), se establecieron una serie de fases para facilitar el análisis de la actividad: alcance (incluye coger el vaso), transporte proximal, beber, transporte distal (incluye soltar el vaso) y retorno a inicio.

Una vez recogidos y analizados los registros, a partir de los recorridos articulares y variables como la posición y velocidad de la mano, medida a partir del marcador en la cabeza del tercer metacarpiano, se computaron una serie de índices cinemáticos descriptores del movimiento, relacionados con destreza y habilidad global del miembro superior (de los Reyes-Guzmán, 2017; de los Reyes-Guzmán, 2016).

3. Resultados

3.1. Evolución clínica

Caso 1: El acto quirúrgico, el postoperatorio y el programa rehabilitador intensivo previo y posterior cursaron sin complicaciones. Sin embargo, al alta, a pesar de haber ganado algo de fuerza en la musculatura esperada (Fig. 1) y presentar similares balances articulares pasivos en el brazo intervenido, su puntuación en la escala SCIM III había descendido a 27/100 (Fig. 2). La paciente estaba subjetivamente poco satisfecha del resultado de la transposición (2/5 en una escala Likert 5, siendo 0 muy insatisfecha y 5 muy satisfecha).



Caso 2: Tampoco hubo complicaciones en el acto quirúrgico, el postoperatorio ni en el programa rehabilitador intensivo previo y posterior. Al alta de un programa rehabilitador con la misma duración y contenido había ganado fuerza en la musculatura esperada (Fig. 1), su puntuación en el SCIM había aumentado a 36/100 (Fig. 2). El paciente estaba subjetivamente satisfecho del resultado de la transposición (4/5 en una escala Likert 5, siendo 0 muy insatisfecho y 5 muy satisfecho).



Figura 2: Grado de independencia funcional medido mediante la escala SCIM III antes y después de la transposición tendinosa. La línea negra continua corresponde al caso 1; la línea negra de puntos corresponde al caso 2.

3.2. Análisis cinemático del miembro superior

Los resultados relativos al estudio biomecánico de los miembros superiores intervenidos mostraron una pérdida de rango articular dinámico en el caso 1 a expensas de hombro y codo, pero una ganancia global de recorridos articulares en el caso 2 (Tabla 1).

Tabla 1.	Incr	emento	en	la .	función	residual	del	miembro
sup	erior	derecho	entr	e las	evaluaci	ones post-	-pre-o	cirugía

△ ROM Post-Pre (°)	CASO 1	CASO 2
ROM Total	-6.36	74.59
ROM Hombro	10.42	30.77
Abd-Add	-5.66	9.88
Flex-Ext	-22.72	19.20
Rot ext-int	32.79	1.68
ROM Codo	-26.85	22.37
Flex-Ext	-3.14	5.25
Pron-Sup	-23.73	17.12
ROM Muñeca	10.07	21.45

4. Discusión

En el presente trabajo se aplicaron herramientas biomecánicas para evaluar la función residual del miembro superior de dos pacientes tetrapléjicos con lesiones neurológicamente muy similares, a los que se les realizó una transposición tendinosa deltoides posterior a tríceps braquial para mejorar la extensión del codo y, por ende, su nivel de independencia en las AVDs.

Ambos pacientes tenían una edad similar, lesiones C5 ASIA A crónicas y estable, una fuerza residual parecida (Figura 1) y un nivel de dependencia funcional también superponible (Figura 2). Antes de la cirugía, la única diferencia relevante era el sexo, el caso 1, el de mal resultado funcional, era una mujer y el 2, el que terminó satisfactoriamente, era un varón.

La evolución de la fuerza en ambos fue bastante similar y las exploraciones clínicas neuromusculares, que se realizan estática y analíticamente, no mostraron grandes diferencias entre ambos, pero mientras que el caso 1 perdió independencia funcional, el caso 2 la ganó. Fueron los estudios biomecánicos los que objetivaron la falta de eficacia mecánica de la cirugía en el caso 1 y el éxito en el caso 2, precisamente por su capacidad de analizar el movimiento durante su ejecución.

Una limitación clara de este trabajo es la ausencia de estudios de imagen de la musculatura transferida que informase de su morfología y arquitectura. Aunque del análisis biomecánico se obtienen gran cantidad de datos, no es posible saber la razón de este pronóstico funcional tan diferente en nuestro caso. Sin embargo, parece razonable aceptar que hubiera de partida diferencias en la arquitectura muscular de los deltoides posteriores de ambos pacientes -mayor longitud y grosor de este músculo en el paciente varón- y que dichas diferencias podría podrían haber jugado a favor del caso 2 y en contra del caso 1 (Fridén y Lieber, 2001). En el futuro, nos proponemos incluir en el protocolo de estudio de estos pacientes pruebas de imagen muscular como la ecografía y/o la resonancia magnética.

5. Conclusión

El presente trabajo pone de relieve la capacidad de los estudios biomecánicos para esclarecer dudas diagnósticas o pronósticas de la práctica clínica diaria en neurorrehabilitación y cirugía de la mano tetrapléjica, gracias a que aportan datos objetivos, cuantitativos y dinámicos del movimiento.

6. Referencias

AIZAWA, J., MASUDA, T., KOYAMA, T., KOJIISOKZAKI, K.N., OKAWA, A., MORITA, S., (2010). "Three-dimensional motion of the upper extremity joints during various activities of daily living". *J Biomech*, vol. 43, pp. 2915-2922.

BUTLER, E.E., LADD, A.L., LOUIE, S.A., LAMONT, L.E., WONG, W., ROSE, J., (2010). "Temporalspatial parameters of the upper limb during a reach & grasp cycle for children". *Gait Posture*, vol. 32, pp. 301-306.

DE LOS REYES-GUZMÁN, A., GIL-AGUDO, A., PEÑASCO-MARTÍN, B., SOLÍS-MOZOS, M., DEL AMA-ESPINOSA, A., y PÉREZ-RIZO, E. (2010). "Kinematic analysis of the daily activity of drinking from a glass in a population with cervical spinal cord injury". *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, 7(1), 41.

DE LOS REYES-GUZMÁN, A., DIMBWADYO-TERRER, I., PÉREZ-NOMBELA, S., MONASTERIO-HUELIN, F., TORRICELLI, D., PONS, J.L., y GIL-AGUDO, A. (2016). "Novel kinematic indices for quantifying movement agility and smoothness after cervical Spinal Cord Injury". *NeuroRehabilitation*, 38(2), 199-209.

DE LOS REYES-GUZMÁN, A., DIMBWADYO-TERRER, I., PÉREZ-NOMBELA, S., MONASTERIO-HUELIN, F., TORRICELLI, D., PONS, J.L., y GIL-AGUDO, A. (2017). "Novel kinematic indices for quantifying upper limb ability and dexterity after cervical spinal cord injury". *Medical & biological engineering & computing*, 55(5), 833-844.

FRIDÉN J, LIEBER RL. Quantitative Evaluation of the Posterior Deltoid to Triceps Tendon Transfer Based on Muscle Architectural Properties. J Hand Surg 2001; 26A: 147-55.

KIM, K., SONG, W.K., LEE, J., LEE, H.Y., PARK, D.S., KO, B.W., KIM, J., (2014). "Kinematic analysis of upper extremity movement during drinking in hemiplegic subjects", *Clin Biomech*, doi: 10.1016/j.clinbiomech.2013.12.013.

KIRSHBLUM S.C., BURNS S.P., BIERING-SORENSEN F., DONOVAN W., GRAVES D.E., JHA A., JOHANSEN M., JONES L., KRASSIOUKOV A., MULCAHEY MJ, SCHMIDT-READ M., WARING W. (2011). International standards for neurological classification of spinal cord injury (Revised 2011). *Journal of Spinal Cord Medicine*, 34 (6): 535-46.

KLOTZ, M.C.M., KOST, L., BRAATZ, F., EWERBECK, V., HEITZMANN, D., GANTZ, S., DREHER, T., WOLF, S.I., (2013). "Motion capture of the upper extremity during activities of daily living in patients with spastic hemiplegic cerebral palsy". *Gait Posture*, 38,pp. 148-152.

LANG, C.E., WAGNER, J.M., EDWARDS, D.F., SAHMANN, S.A., DROMERICK, A.W., (2006). "Recovery of grasp versus reach in people with hemiparesis poststroke".*Neurorehabil Neural Repair*, vol. 20, pp. 444-454.

MAGERMANS, D., CHADWICK, E., VEEGER, H., VAN DER HELM, F., (2005). "Requirements for upper extremity motions during activities of daily living". *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, vol. 20, pp. 591-599.

MATEO, S., ROBY-BRAMI, A., REILLY, K.T., ROSSETTI, Y., COLLET, C., y RODE, G. (2015). "Upper limb kinematics after cervical spinal cord injury: a review". *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, *12*(1), 9.

MURGIA, A., KYBERD, P., BARNHILLI, T., (2010). "The use of kinematic and parametric information to highlight lack of d compensation in the upper extremities during activities of daily living". *Gait & Posture*, vol. 31, pp. 300-306.

MURPHY, M.A., WILLEN, C., SUNNERHAGEN, K.S., (2013). "Responsiveness of upper extremity kinematic measures and clinical improvement during the first three months after stroke". *Neurorehabil Neural Repair*, vol. 27, p. 844.

MURPHY, M.A., WILLEN, C., SUNNERHAGEN, K.S., (2011). "Kinematic variables quantifying upper extremity performance after stroke during reaching and drinking from a glass". *Neurorehabil Neural Repair*, vol. 25(1), pp. 71-80.

MURPHY, M.A., SUNNERHAGEN, K.S., JOHNELS, B., y WILLÉN, C. (2006). "Three-dimensional kinematic motion analysis of a daily activity drinking from a glass: a pilot study". *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, 3(1), 18.

NAMDARI, S., YAGNIK, G., EBAUGH, D.D., NAGDA, S., RAMSEY, M.L., WILLIAMS Jr, G.R., MEHTA, S.(2012). "Defining functional shoulder range of motion for activities of daily living". *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, vol. 21, no. 9, pp. 1177-1183.

National Spinal Cord Injury Statistical Center, Facts and Figures at a Glance. Birmingham, AL: University of Alabama at Birmingham, 2015. https://www.nscisc.uab.edu/Public/Facts%20and%20Figures%20-%202018.pdf. Last retrieved: 07/31/2018

OSU, R., OTA, K., FUJIWARA, T., OTAKA, Y., KAWATO M., LIU, M., (2011). "Quantifying the quality of hand movement in stroke patients through three-dimensional curvature". *J Neuroeng rehabil*, 8:62.

PARKER, V.M., WADE, D.T., y HEWER, R.L. (1986). "Loss of arm function after stroke: measurement, frequency, and recovery". *International rehabilitation medicine*, 8(2), 69-73.

PELJOVIC AL, BRYDEN AM,BOHN A, KEITH MW. Surgical restoration of the hand in tetraplegia. <u>In</u>: Kirchblum S, Campagnolo D.I. Spinal Cord Medicine, 2nd edition. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams and Wilkins, 2011, p:514.

PETUSKEY, K., BAGLEY, A., ABDALA, E., JAMES, M., RAB, G., (2007). "Upper extremity kinematics during functional activities: Threedimensional studies in a normal pediatric population". *Gait Posture*, vol. 25, pp. 573-579.

VAN ANDEL, C.J., WOLTERBEEK, N., DOORENBOSCH, C.A., VEEGER, D.H., HARLAAR, J., (2008). "Complete 3D kinematics of upper extremity functional tasks". *Gait Posture*, vol. 27, pp. 120-127.

WU, G., VAN DER HELM, F.C., VEEGER, H.D., MAKHSOUS, M., VAN ROY, P., ANGLIN, C. y WERNER, F.W. (2005). "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*, *38*(5), 981-992.

Conical tip gauge influence in extrusion bioprinting: computational simulation study

JC. Gómez Blanco¹, E. Mancha Sánchez¹, M. López², A. Díaz-Parralejo², FM. Sánchez Margallo¹, JB. Pagador Carrasco¹

¹Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {jcgomez, emancha, msanchez, jbpagador}@ccmijesususon.com

²Departamento de Ingeniería Mecánica, Energética y de los Materiales, Universidad de Extremadura, Badajoz, España, mlopezks@alumnos.unex.es, adp@unex.es

Abstract

Bioprinting has gone from being a promising technology to become a very used technology in health. But most of the bioprinting difficulties are related to cellular viability due to high pressures reached during the process. In order to understand these problems, three simulations have been done to test the influence of conical tip gauges on pressure distribution. In our CFD simulations, a commercial bioink at $37^{\circ}C$ was bioprinted using three conical tips (G22, G25 and G27). Results show a rising pressure when gauges are reduced from G22 to G27 (752 to 8026 kPa, respectively). In conclusion, geometry changes, such as G27 with needle-end instead of G22 and G25 with conical-end, can highly increase inlet pressure during biopritning.

1. Introduction

3D printing is an 80s additive manufacturing fabrication method. This technology works by the deposition of material layer by layer until the creation of a 3D object. In this sense, 3D printing allows the creation of intricate geometry which means the possibility of fabricating objects that conventional manufacturing methods cannot allow. This important advantage of the fabrication method is used in many applications.

Bioprinting is one of the possible applications of 3D printing that is characterised by the use of 3D printing technologies in health or biology [1-3]. However, the main difference of bioprinting compared with the conventional technology is the material used. In fact, any biocompatible (allow cells to live and proliferate) and biodegradable material can be used in bioprinting procedures [4-6]. There is a main classification of materials used in bioprinting: 1) polymers as Polycaprolactone (PCL) or methylcellulose and 2) hydrogels as Alginate or Hyaluronic Acid (HA). Although there are many studies that analyse which material is better according to the biological material to be bioprinted [7-9], it is still a critical point to perform a proper selection of this bioink. 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. On the other hand, the survival of cells is highly dependent of a proper environment and the nutrients they need to live and proliferate [10]. For this reason, 3D bioprinting must control at least some critical parameters such as temperature, pressure, CO_2 and pH [11] due the high sensitivity of cells.

Between all bioprinting techniques, maybe extrusion, inkjet and laser-assisted are the most commonly used [12]. Cost and efficiency reasons cause that the most popular one was extrusion-based that deposit biomaterials through a customized nozzle [13]. In this sense, these bioprinters are usually composed by a syringe and a needle or a tapered nozzle (conical tip). So, the extrusion is activated by pneumatic or mechanical forces which cause, as described in bibliography, a rise of inner pressure obtaining a low cell survival [8].

Due to the multiple interactions among all bioprinting parameters it is hard and complicated to define specific influence of each parameter during an experimental bioprinting process. In this sense, computational fluid dynamics (CFD) can be used to analyse different parameters of the hydrogel flow through the nozzle [14-15]. Although CFD simulations can provide useful information, studies in bioprinting are still scarce and have room for improvement [16-17]. For this reason, shape and size of the nozzle have been studied in this work to analyse its influence on the pressure over the hydrogel that directly affect cell survival of the process.

In this sense, the main objective of this work is to analyse the pressure in the tip of three different tapered nozzle gauges (G22, G25 and G27) using a commercial bioink.

2. Methods

2.1. Model

Three different models were created and simulated in COMSOL Multiphysics through a 2D axisymmetric

model and the Two-Phase Flow (TPF) level set interface. All conical tips geometries (figure 1) were modelled by a trapezium and a rectangle. The trapezium dimensions were 32 mm height, 2 mm inlet face and 0.205, 0.13 and 0.105 mm of the outlet face (G22, G25 and G27 conical tip). The rectangle dimensions were 6.5 and 0.92 mm for height and width, respectively. The rest of the geometry was the air where the nozzle ejects the bioink and it was composed by a rectangle and a trapezium.



Figure 1. G22, G25 and G27 nozzle geometry (from left to right).

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:

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} + \rho(u \cdot \nabla)u = \nabla \cdot \left[-pI + \mu(\nabla u + \nabla u^T)\right] + F + \rho g$$
$$\nabla \cdot u = 0$$

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 bioink 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:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \cdot \nabla \phi = \gamma \nabla \left(\epsilon_{ls} \nabla \phi + \phi (1 - \phi) \frac{\nabla \phi}{|\nabla \phi|} \right)$$

where ϕ is the contour line of the interface of the gasliquid two-phase flow, γ is the reinitialization parameter to solve the equation, ϵ is the interface thickness controlling parameter. Here, bioink 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 hydrogel is ejected. The material used for the simulation is a commercial bioink (Cellink® Bioink), composed by alginate with nanocellulose fibres, with a density of 1000 kg/m³ and a non-linear viscosity described by a Newton potential law:

$$\mu = m(\dot{\gamma})^{n-1}$$

Where *m* is the fluid consistency index and *n* the flow behaviour index. Parameters of viscosity were calculated to get a flow of the material at 37° C obtaining 89.26 for fluid consistency index and 1.206 for flow behaviour index.

To make possible a flow, an inlet was placed in the top part of the nozzle with a value of 5 mm/s. Also, an outlet condition was set at the top part of the air domain to allow bioink 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 that creates multiple meshes for segments of the time-dependent simulation. For the G22 model, the initial triangular mesh has 15240 triangular elements, while the remeshing raises the number of elements up to 21709 in those areas where the interface between both materials is placed. The G25 model mesh has 15265 triangular elements and as the previous model remeshing raises the number of elements up to 21121. The third model (G27) has 15096 and 21107 triangular elements for the initial and the final remeshing, respectively.

2.5. Simulation

A simulation time of 1.5 s (step = 5 ms) was carried out for each model. Additionally, each simulation was composed of two 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 Parallel Direct Sparse Solver Interface (PARDISO) method and an automatic Newton non-linear method was used. For the Time Dependent step, a time-dependent solver was used with the non-linear method with an initial Newton damping factor of 1. Additionally, the fluid volumetric fraction was defined such as the amount of each material during the simulation where $\phi_0 = 1$ means 100% hydrogel and $\phi_0 = 0$ means 100% air (material interface of 0.5).

3. Results and Discussion

3.1. Fluid Volumetric Fraction

Figure 3 shows the extruded strand formed at 1.5 s of the simulations. The extruded strand of G22 and G25 simulations have depreciable differences in their shape due to the different gauge. In the case of G27 the difference is noticeable, comparing to G22 and G25, the smaller gauge and the straight final part of the conical tip causes a smaller diameter of the extruded strand.



Figure 2. Fluid Volumetric Fraction G22, G25 and G27 (from left to right) model in 1.5 s.



Figure 4. Fluid Volumetric Fraction G22, G25 and G27 (from left to right) model in 0.2 s.

The above shape difference is highly noticeable in previous simulations times as can be seen in figure 4. In 0.2s the strand has not reached the floor surface (printing bed) and all the material is in the air. It is clear that the smaller the gauge (high G values) the thinner the strand and the less time it needs to reach the printing bed.

3.2. Pressures

In figure 5 is represented the pressure plot obtained in the simulations of all models. The selected point to obtain the pressure values is the outlet of the nozzle where the biomaterial leaves the nozzle and reach the air. All three plots reach a plateau at 0.2 s with values 752, 4120 and 8026 kPa for G22, G25 and G27, respectively. The difference in the pressure values between the different calibres should be noted. From G22 (0.41 mm) to G25 (0.26 mm) the pressure raises approximately 5.5 times and between G25 and G27 (0.21 mm) the increase is around the double. Based on these results is advisable to affirm that the geometry has a very important role in the pressure values. The smaller the nozzle inner diameter the higher the pressure increases.



Figure 3. Outlet pressure plot of G22 (blue lines), G25 (red triangles) and G27 (green squares) conical tips.

To study the outlet pressure a similar study as the one performed to the inlet pressure is done (figure 6). The inlet pressures are 6700, 36608 and 248373 kPa for G22, G25 and G27 respectively. Pressure has the same behaviour that outlet pressures, the smaller the gauge, the higher the pressure. In this case the rise of pressure is 5.5 times between G22 and G25 and 9.5 times for G25/G27 conical tips.

In general, the inlet/outlet pressure variation is 8.9 times for G22 and G25, and 30.9 times for G 27 conical tips. The mismatch between pressure variations for each tip is due to the geometry itself, the G27 conical tips have a "needle-end" that provoke a high raise of pressure of this type of tips.



Figure 4. Inlet pressure plot of G22 (blue lines), G25 (red triangles) and G27 (green squares) conical tips.

This study only analyses the theoretical pressures obtained in simulations calculation, it is needed to check if these results are close enough to the real one obtained during a bioprinting procedure. Also is needed to perform a study to check if the obtained pressures are supported by cells to live.

4. Conclusions

Three different computational simulations of the flow of a commercial bioprinting material through three different extrusion bioprinting conical tip nozzles (G22, G25 and G27) have been done. The main conclusion is that the geometry has a very important role in the pressure distribution, the lower the inner gauge (which means the higher value of commercial name of gauge) the higher the pressure value. Also, inlet pressures may highly increase with different tip geometries, as happened in G27 tip with the change of "conical-end" to "needle-end".

It is necessary to perform further studies to check the correspondence of presented CFD (theoretical results) with experimental measures of bioprinting, mainly to confirm pressure ranges. Additionally, it is advisable to perform parametrical geometry changes in simulations to optimize the nozzle for reduce internal pressures increasing cellular viability.

Acknowledgements

This work has been partially funded by the Consejería de Economía e Infraestructuras (Junta de Extremadura). Grant number IB16200 "Optimización y mejora de técnicas de bioimpresión para regeneración de cartílago y prótesis vasculares".

References

- 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] [1] F. Moldovan, "Recent Trends in Bioprinting," Procedia Manuf., vol. 32, pp. 95–101, 2019.

- [3] [1] A. N. Leberfinger et al., "Bioprinting functional tissues," Acta Biomater., 2019.
- [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] 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.
- [11] 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).
- [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. Shi, B. Wu, S. Li, J. Song, B. Song, and W. F. Lu, "Shear stress analysis and its effects on cell viability and cell proliferation in drop-on-demand bioprinting," Biomed. Phys. Eng. Express, vol. 4, no. 4, 2018.
- [17] J. Göhl, K. Markstedt, A. Mark, K. Håkansson, P. Gatenholm, and F. Edelvik, "Simulations of 3D bioprinting: Predicting bioprintability of nanofibrillar inks," Biofabrication, vol. 10, no. 3, 2018.
- [18] COMSOL Multiphysics, "Theory for the Two-Phase Flow Interfaces - CFD Module User's Guide," Manual, p. 620, 2014.

Sobre la detección de firmas de scattering en imágenes SFDI de tumorectomías de cáncer de mama mediante agrupaciones de inteligencias artificiales: avances en el estado de la técnica

Arturo Pardo^{1, 3}, Samuel S. Streeter², Benjamin W. Maloney², José Alberto Gutiérrez¹, José M. López-Higuera^{1, 3, 4}, Brian W. Pogue² y Olga M. Conde^{1, 3, 4}

¹ Grupo de Ingeniería Fotónica, Univ. de Cantabria, Santander, Spain {arturo.pardo, lopezhjm, olga.conde}@unican.es

² Thayer School of Engineering, Dartmouth College, Hanover, 03755 NH

³ IDIVAL - Valdecilla Biomedical Research Institute, Santander, Spain

⁴ CIBER-BBN – Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Resumen

Los procedimientos de comprobación de los márgenes quirúrgicos mediante análisis patológico macroscópico están mostrando resultados prometedores en el diagnóstico quirúrgico en tiempo real, gracias al uso de métodos de aprendizaje profundo (deep learning) capaces de abordar un mismo problema atendiendo a cuestiones como la textura, la microestructura tisular presente en las muestras, o las propiedades ópticas superficiales locales, y agregando la información extraída de forma comprensible para el cirujano. Este trabajo propone una serie de nuevas técnicas aplicadas en el contexto de cirugía conservadora de mama (BCS, Breast Conserving Surgery) para la delineación de márgenes quirúrgicos con métodos de Imagen en el Dominio de las Frecuencias Espaciales (SFDI, Spatial Frequency Domain Imaging), basado fundamentalmente en agrupaciones de clasificadores convolucionales. Los primeros resultados cuantitativos resultan en una precisión global del 79.3% en una base de datos de 70 resecaciones tumorales.

1. Motivación

Pese a sus ventajas con respecto a la mastectomía radical, la cirugía conservadora de mama sigue mostrando en 2019 una tasa de recidiva y de necesidad de segundas y terceras intervenciones de entre el 20 y el 30% de los casos [1]. Esto se debe, entre otras razones, a la falta de métodos capaces de diagnosticar las propiedades heterogéneas de los tumores de forma fiable, segura, y rápida, más allá de la percepción visual y/o táctil del cirujano encargado de llevar a cabo la intervención, incluso en compañía de un patólogo capaz de llevar a cabo una observación macroscópica. El problema de dicha observación, aparentemente, resulta de la falta de suficiente contraste diagnóstico que permita la visualización correcta del tumor ante la iluminación con luz blanca. El contraste es reducido, en la práctica, por las propiedades ópticas típicas de los tejidos biológicos, medios turbios donde la dispersión y la absorción de luz son fenómenos dominantes.

Para corregir esta falta de contraste, la Imagen en el Dominio de las Frecuencias Espaciales (SFDI, *Spatial Frequency Domain Imaging*) permite la visualización del comportamiento difuso y subdifuso de cualquier material turbio bajo análisis. De esta forma, diferentes agrupaciones celulares muestran un comportamiento diferenciable ante la variación de las frecuencias espaciales, generando imágenes de gran contraste, así como la extracción de las propiedades ópticas superficiales del material, e información molecular (i.e. de absorción) y tomográfica (i.e. estructural). La resolución límite queda últimamente dictada por la penetración de la luz, que depende del coeficiente de scattering reducido $\mu'_{s}(\lambda)$ y del coeficiente de absorción $\mu_a(\lambda)$ en el volumen ocupado por el tejido [2]. En el ámbito de la cirugía conservadora de mama, el empleo de la información de reflectancia en función de la frecuencia espacial permite estudiar las diferentes respuestas de los tejidos que pueden observarse en muestras biológicas de tejido resecado. Sin embargo, al estudiar las propiedades ópticas superficiales de los materiales, la variabilidad inter- e intra-paciente complica significativamente la obtención de un único método adecuado para clasificar los tejidos. Para datos SFDI, el estudio píxel a píxel de las propiedades ópticas debidas a la microestructura de los tejidos mamarios facilita una mayor resolución espacial que los métodos que analizan texturas y estructuras locales. Sin embargo, estos últimos proporcionan una mejor capacidad diagnóstica y resiliencia a la variabilidad, a cambio de perder resolución espacial. En el presente trabajo se exponen una serie de métodos y técnicas de reciente diseño e implementación que tratan de aprovechar los diferentes métodos de diagnóstico para aunarlos y obtener un mejor diagnóstico. Así, el objetivo fundamental de esta contribución es exponer algunos resultados prácticos realizados en el Dartmouth-Hitchcock Medical Center (DHMC) en Hanover, New Hampshire, Estados Unidos.

2. Materiales y métodos

2.1. Sistema de imagen SFDI

El dispositivo de imagen médica es un sistema IVIS SpectrumCT (Perkin-Elmer, 02451 Boston, MA, USA) con un proyector SFDI basado en tecnología DLP (Texas Instruments, Dallas, TX, USA) añadido *ad hoc*, alimentado por una fuente de luz blanca [3]. Las muestras biológicas son adquiridas siguiendo un protocolo ético riguroso y establecido por el Comité por la Protección de Sujetos Humanos (CPHS), que actúa de Institutional Review

95

Board (IRB) en el centro médico. Cada muestra es seccionada en gruesas lonchas del orden de los 2-5 mm y situada entre dos planchas de acrílico de 3 mm, para su posterior colocación y corregistro en la plataforma mecanizada del IVIS SpectrumCT. Una de las secciones se elige como medida más significativa para el estudio de la muestra en cuestión.

Cada una de las 70 medidas se corresponde con un especímen diferente. Cada imagen tiene una resolución espacial de 1024×1024 píxeles, y un total de 16 capturas por muestra, correspondientes a cuatro frecuencias espaciales y cuatro longitudes de onda por frecuencia 1.37 mm^{-1} , y espacial (0.0, 0.1488, 0.6053, 490, 550, 600,700 nm, respectivamente). Asimismo, regiones de interés todas ellas incluyen (ROI) corregistradas visualmente con resultados histopatológicos obtenidos mediante técnicas típicas, i.e. tinción de hematoxilina y eosina (H&E) de la sección seleccionada. En total, 6 categorías de ROIs son estudiadas: (1) tejido adiposo, (2) tejido conectivo, (3) tejido benigno, (4) tejido normal tratado con radioterapia, y (5) tejido maligno. En definitiva, se estudia el fondo de la plataforma, tejido adiposo, tejido conectivo entre tumor y no tumor, tejido sano normal o tratado por radioterapia, crecimientos benignos (e.g. Fibroadenoma) y malignos (e.g. Carcinoma Lobular Invasivo, Carcinoma Ductal In Situ, Carcinoma Ductal Invasivo, con sus correspondientes etapas). Sin embargo, las regiones de interés no están especificadas en la totalidad de las imágenes; esta falta de información completa imposibilita el uso de redes de segmentación automática, tales como las U-Nets [4].

2.2. Agrupaciones de redes compuestas

Para los experimentos aquí mostrados, se crearon tres redes idénticas, cuya única diferencia estriba en las dimensiones del campo receptivo a su entrada. La primera red se dedica a la clasificación de píxeles individuales, mientras que la segunda observa parches de 10×10 píxeles, y la tercera tiene acceso a una retícula mayor, de 30×30 píxeles. Cada red individual está compuesta por dos redes menores: (a) un autoencoder variacional [5] y (b) un clasificador. Un autoencoder es una red que trata de replicar los datos de entrada x a su salida, \hat{x} . Para lograrlo, los datos deben pasar por un cuello de botella intermedio, \hat{z} , cuya dimensión es muy inferior a la de los datos de entrada. El autoencoder, así, trata de comprimir los datos que le llegan, generando una representación de pocas dimensiones, y el clasificador trata de realizar el diagnóstico necesario, a partir de la información del cuello de botella del autoencoder. Al conectar un autoencoder variacional $f_{VAE}: x \to z \to \hat{x}$ y posteriormente conectar el clasificador $f_c: z \to \hat{y}$ al cuello de botella del VAE, se intenta forzar que la reconstrucción z satisfaga las restricciones propias del autoencoder E_{recon} , y al mismo tiempo sea capaz de satisfacer la función de error del clasificador $E_{cls} = \|\hat{y} - y\|^2$, que evalúa la calidad del diagnóstico [5]. La red resultante es capaz de clasificar el tejido y proporcionar una explicación de por qué lleva a cabo dicha decisión. En particular, los datos píxel a píxel se evalúan con un β -VAE con $n_z = 2$ y encoder y decoder formado por redes feedforward 4 × 200 ELU. Asimismo,



Fig. 1. Promediado de una agrupación de n = 2 redes. Los datos originales se procesan para estudiar, por separado, diferentes cuestiones de interés. El diagnóstico global se fusiona de forma sencilla, ponderando las contribuciones de cada una de las redes y sumándolas.

del cuello de botella sale un clasificador 4×200 ELU. La estructura local (en parches de 10×10 píxeles) se estudia autoencoder con capas completamente con un convolucionales, de 50 filtros por capa para un total de 9 capas, tamaño de filtro 3×3 y padding 2 cada 2 capas, seguido de 3×200 ELU hasta el cuello de botella y una red 3 × 100 para realizar la clasificación. Finalmente, los parches 30×30 , que contienen información textural, se estudian con un sistema análogo, pero con una retícula de entrada mayor ($x \in \mathbb{R}^{30 \times 30 \times 16}$). La salida de cada red es una única capa sigmoidal 6 × 1. Cada red facilita su resultado de clasificación para cualquier región de la imagen. Para producir un mapa de diagnóstico, como los presentados en las figuras inferiores, se trata a la red neuronal como un filtro, el cual es interrogado a lo largo de todas las posiciones posibles de la imagen. Para cada posición en la imagen de entrada, la red dispondrá de una decisión diagnóstica. Interrogando en todas las posiciones posibles en la imagen, se consigue un mapa de categorías de tejido bidimensional.

Las redes se entrenan mediante el algoritmo de optimización Adam, utilizando mini-batches estocásticos (i.e. elegidos al azar para cada iteración) de tamaño 128 para un total de 20 épocas aproximadamente, sobre un dataset de entrenamiento aumentado generado mediante muestreo poblacional sobre las regiones de interés (ROIs, *Regions of Interest*) facilitadas por el patólogo, e ignorando cada muestra bajo análisis, siguiendo el rigor requerido en validación *leave-one-out*. Los datasets de entrenamiento constituyen un total de 30.000 muestras en total, repartidas entre las diferentes categorías. Para generar un diagnóstico común a todas las redes, se emplea cada uno de los sistemas como un filtro, obteniendo así mapas de probabilidad diagnóstica de cada uno de los sistemas para todo píxel $(\hat{y}_1, \hat{y}_2, \hat{y}_3)$. El diagnóstico global se realiza promediando



Fig. 2. Resultados de delineación de márgenes quirúrgicos para un Carcinoma Ductal Invasivo embebido en tejido adiposo (Muestra 42). Comparativa entre el diagnóstico realizado por el patólogo (izquierda) y el realizado por la agrupación (derecha).

dichos resultados, $\hat{y} = \frac{1}{3}(\hat{y}_1 + \hat{y}_2 + \hat{y}_3)$, tal y como se muestra en la Figura 1 para el caso de dos redes neuronales.

3. Resultados cualitativos

Para esta contribución, se muestra un resultado de la clasificación de la agrupación en la Figura 2. La subfigura de la derecha muestra las ROIs proporcionadas por el patólogo de la muestra número 42. Dicho espécimen presenta un Carcinoma Ductal Invasivo rodeado de grasa. Las regiones indicadas no representan la extensión real del tumor; en su lugar, indican regiones donde el patólogo tiene absoluto conocimiento de que constituyen un tipo de tejido en particular. S i se compara con el estudio histológico de la Figura 3, se p uede contemplar cierto corregistro espacial entre la salida proporcionada por la red y la facilitada por el experto. En lo que respecta a las ROIs, salvo por la detección de una presencia análoga al tejido conectivo, el sistema detecta la extensión y forma del tejido adiposo circundante, así como el margen po sitivo presente en el análisis histológico.

Dicha clasificación puede compararse con los resultados individuales de cada una de las redes por separado, mostrados en la Figura 4. Los análisis texturales facilitan una localización del tumor existente, mientras que no facilitan una resolución espacial suficiente. Por otro lado, el resto de sistemas sí que facilitan un mayor detalle, pero mostrando una precisión menor, mostrando gran cantidad de falsos positivos en el tejido adiposo y en regiones con una iluminación irregular. El pro medio de las tres respuestas parece servir como buena combinación de dichas técnicas, evitando dichos falsos positivos y mejorando la resolución facilitada por el análisis textural.

Se discutirán y comentarán resultados de otras configuraciones más recientes, como el uso de *stacked classifiers*, y análogos a las U-Nets sin estructuras específicas, con el mismo propósito: mantener la precisión facilitada por los métodos texturales y la resolución espacial lo máximo posible.

4. **Resultados cuantitativos**

Los resultados cuantitativos que se presentan facilitan datos globales sobre la precisión de agrupaciones de redes



Fig. 3. Corregistro H&E de la muestra 42. En negro y rojo, los contornos, marcados por el patólogo, correspondientes a Carcinoma Ductal Invasivo y Carcinoma Ductal In Situ, respectivamente.

convolucionales. Estos resultados son más recientes y tratan de evaluar arquitecturas de red más sencillas, que en todo caso sean equivalentes a la combinación de autoencoder y clasificador. En particular, se emplean cuatro clasificadores completamente convolucionales [6] con las siguientes estructuras:

- Red de entrada de dimensiones 3 × 3 × 16, 4 × 100 capas convolucionales ELU, tamaño de filtro 3 × 3, sin striding, 3 × 200 ELU para el clasificador tras el promediado global de la última capa convolucional.
- Red con entrada 11 × 11 × 16, 3 × 50 seguido de 3 × 100 convolucionales ELU, tamaño de filtro 3 × 3, striding de 2 píxeles en la tercera y última capa, 3 × 256 ELU para clasificación tras el promediado global de la sexta capa convolucional.
- 3) Idéntica a (2) pero con entrada $21 \times 21 \times 16$.
- Idéntica a (3) pero con entrada 31 × 31 × 16 y más unidades convolucionales: 3 × 60 seguidas de 3 × 120, con striding en la tercera y sexta capa.

En la Figura 4 se muestra la matriz de confusión resultante empleando validación cruzada (*leave-one-out cross-validation, LOOCV*). Dicha matriz resulta en una precisión promedio del 79.3%, que podremos considerar como suficiente para estas simulaciones, dado el reducido



Fig. 3. Cada uno de los resultados de diagnóstico de las tres técnicas por separado: análisis píxel a píxel (a), análisis de parches 10×10 (b), y análisis textural macroscópico con parches 30×30 (c). Los tres sistemas por separado poseen ciertas ventajas e inconvenientes que deberían ser utilizados de forma constructiva.



Fig. 4. Matriz de confusión multi-categoría para una agrupación de redes completamente convolucionales. En las filas, las verdaderas categorías (tejido adiposo, conectivo, benigno, normal tratado y maligno). En las columnas, lo diagnosticado por la agrupación de IAs (i.e., la suma de las filas es 1).

número de muestras y regiones de interés. Es de particular interés mencionar la razón principal por la cual la precisión se reduce al 80%. El tejido normal y el tejido conectivo, de similar naturaleza fisiológica, son frecuentemente confundidos por el sistema automático. Sin embargo, la distinción entre tumores benignos y tumor es malignos, así como la detección del tejido adiposo y conectivo circundante, responde adecuadamente con precisiones del 75% al 99%.

Como en todos los sistemas clasificadores y detectores, los valores con los que responde la agrupación podrían ponderarse para maximizar y/o minimizar el tipo de diagnóstico erróneo y su magnitud: el número de falsos negativos podría minimizarse a cambio de obtener falsos positivos, o bien tratando de maximizar la detección de una patología a costa de empeorar la capacidad discriminativa de otras. Entre otras líneas de trabajo futuras, se plantean como dignas de mención: (a) el uso de información clínica previa a la extracción en el marco de trabajo diagnóstico; (b) las ventajas e inconvenientes de realizar reducción de dimensionalidad a ntes o después de clasificar; (c) el uso de *stacked autoencoders* o bien *stacked classifiers* para tratar de obtener resultados similares a U-Net en los problemas de información imperfecta, y (d) la inclusión de datos de tomografía de rayos X (micro-CT), así como información perfilométrica, para minimizar los artefactos presentes en datos SFDI, con el objetivo de mejorar la capacidad de clasificación y, en la medida de lo posible, la habilidad de la red de explicar por qué se realiza un diagnóstico específico en base a los datos conocidos, con los que ha entrenado.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos NIH/NCI-R01CA192803, DTS17-00055 (INTRACARDIO), INNVAL 16/02 (DICUTEN), INNVAL 18/23 (DAPATOO), TEC2016-76021-C2-2-R (SENSA), fondos FEDER, y la beca predoctoral FPU (FPU16/05705).

Referencias

- [1] K. Kaczmarski, P. Wang, R. Gilmore, N. H. Overton, D. M. Euhus, L. K. Jacobs, M. Habibi, M. Camp, M. J. Weiss, and M. A. Makary. "Surgeon Re-Excision Rates after Breast-Conserving Surgery: a Measure of Low-Value Care". *J Am Coll. Surg.*, 228(4), pp. 504—512, 2019.
- [2] A. Laughney, V. Krishnaswamy, E. J. Rizzo, M. C. Schwab, R. J. Barth, D. J. Cuccia, B. J. Tromberg, K. D. Paulsen, B. W. Pogue, W. A. Wells, "Spectral discrimination of breast pathologies *in situ* using spatial frequency domain imaging", *Breast Cancer Res.* 15(4):R61, 2013.
- [3] D. M. McClatchy III, E. J. Rizzo, J. Meganck, J. Kempner, J. Vicory, W. A. Wells, K. D. Paulsen, and B. W. Pogue, "Calibration and analysis of a multimodal micro-CT and structured imaging system for the evaluation of excised breast tissue". *Phys Med Biol.*, 62(23), pp. 8983—9000, 2017.
- [4] O. Ronneberger, P. Fischer, B, Thomas. "U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation". In proceedings of Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015, pp. 234–241, 2015.
- [5] D. P. Kingma, M. Welling. "Auto-Encoding Variational Bayes." *CoRR*, abs/1312.6114 (2013).
- [6] Jost Tobias Springenberg, et al. "Striving for Simplicity: The All Convolutional Net." *CoRR*, abs/1412.6806 (2014).

Virtualización del test clínico Box and Block basado en Leap Motion Controller

M. Álvarez Rodríguez¹, V. Lozano Berrio¹, S. Ceruelo Abajo², F. Talavera Díaz², A. Gil Agudo², A. de los Reyes Guzmán¹

¹Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Parapléjicos (SESCAM), Toledo, España, maalvarezrodriguez@externas.sescam.jccm.es, {vlozanob,adlos}@sescam.jccm.es

²Servicio de Rehabilitación, Hospital Nacional de Parapléjicos (SESCAM), Toledo, España, {sceruelo,ftalavera,amgila}@sescam.jccm.es

Resumen

El test clínico Box and Block es una escala validada y estandarizada para su uso en el entorno clínico que permite la valoración de la destreza manipulativa grosera. El hecho de proponer métodos virtuales para realizar estas valoraciones supone un intento para eliminar parte de la subjetividad que pueda conllevar el test dependiendo del observador y de la forma en que éste da las intrucciones al paciente. Aplicado a la valoración de la destreza tras patologías neurológicas se han encontrado experiencias previas en Daño Cerebral Adquirido (DCA). El objetivo de este trabajo es presentar la aplicación virtual de la escala Box and Block, así como detalles sobre su diseño y desarrollo para su manipulación a través de Leap Motion Controller. Se analiza la relación existente entre los resultados obtenidos en el test real y en la aplicación virtual en sujetos sanos, obteniéndose una correlación elevada entre la ejecución de ambos tests. Este análisis se está ampliando a una muestra de personas con afectación de la función del miembro superior tras enfermedad neurológica, más concretamente, lesión medular. El objetivo global es que este test virtual sirva como elemento para evaluar en un futuro la efectividad de un prototipo basado en aplicaciones virtuales dotadas de un sentido terapéutico que, manipuladas a partir de Leap Motion permiten trabajar la destreza manipulativa en pacientes con afecciones neurológicas.

1. Introducción

La afectación en la destreza manipulativa y pérdida de coordinación motora son algunas de las consecuencias derivadas de trastornos y enfermedades neurológicas, condicionando en gran medida la autonomía y nivel de independencia y participación social de las personas que las padecen. Así, la calidad del movimiento y desempeño de actividades de la vida diaria está muy influenciada por la función de la mano y la destreza manipulativa [1].

El terapeuta ocupacional trabaja en la mejora de la destreza manual de los pacientes. A menudo, los pacientes no pueden realizar de forma satisfactoria test de destreza fina manual o de los dedos, como Purdue Pegboard Test [2] o el Crawford Small Parts Dexterity Test. Otros test de destreza manual como el Minnesota Rate of Manipulation Test [3] tienen limitada su aplicación clínica porque requieren mucho tiempo de administración, una posición de partida estandarizada y, además, usan valores de normalidad que representan de

manera muy pobre el amplio rango de pacientes. Por estos motivos, a menudo los terapeutas evaluan la destreza de forma subjetiva [4].

De aquí surgió la escala Box and Block, como una forma de solventar las limitaciones detectadas en otros test de medida. El test Box and Block (BBT) se diseñó como un método para evaluar y medir destreza y las funciones de agarre, manipulación y suelta. Se diseñó para ser durable y sencillo de forma que se pudiese usar para la valoración de pacientes con déficits severos de destreza. Asimismo está validado mostrando los valores de normalidad por rango de edad [4].

Se tiene evidencia de varios estudios que han aplicado el BBT como uno de los métodos para evaluar la destreza manual en pacientes con trastornos del sistema nervioso central. Estos estudios analizados sugieren que BBT es un método rápido, sencillo y seguro para medir la destreza manual con buena aplicabilidad en adultos y niños con trastornos neurofuncionales [1].

Actualmente, hay un interés creciente en el uso de tecnología en el campo de la Neurorrehabilitación con el objetivo de cuantificar y generar conocimiento acerca de los trastornos sensorimotores tras enfermedades neurológicas, entendiendo que la tecnología posee un elevado potencial para su uso como herramientas terapéuticas [5]. Así, en la actualidad, son varios los trabajos que proponen versiones virtuales de este test, en principio pensadas para pacientes con DCA y que utilizan tecnología de bajo coste para permitir la interacción del paciente con la aplicación, como Microsoft Kinect [6] y Leap Motion [7].

Por tanto, el objetivo de este trabajo es presentar la aplicación virtual de la escala Box and Block, así como detalles sobre su diseño y desarrollo para su manipulación a través de Leap Motion Controller. Se analiza la relación existente entre los resultados obtenidos en el test real y en la aplicación virtual en sujetos sanos, obteniéndose una correlación elevada entre la ejecución de ambos tests. Este análisis se está ampliando a una muestra de personas con afectación de la función del miembro superior tras enfermedad neurológica, más concretamente, lesión medular. El objetivo global es que este test virtual sirva como elemento para evaluar en un futuro la efectividad de

un prototipo basado en aplicaciones virtuales dotadas de un sentido terapéutico que, manipuladas a partir de Leap Motion permiten trabajar la destreza manipulativa en pacientes con afecciones neurológicas.

2. Test Box and Block Virtual

2.1. Descripción e instrucciones del BBT

La caja está formada por tableros de madera de 1cm de grosor. Las dimensiones de la caja son 53.7cm de largo x 25.4cm de ancho. Los lados largos de la caja son de 53.7 cm por 8.5 cm de 1 cm de grosor. Los lados cortos son de 7.5 cm por 25.4 cm. La caja se divide en dos compartimentos cuadrados insertando un tablero división en el centro. Este tablero es de 25.4 cm de largo por 15.2 cm de alto y 1 cm de grosor. En la parte alta de esta división hay dos agujeros de 2.5cm para facilitar el transporte de la caja. Posteriormente se aplica una capa de barniz y después se pone una tela en la base para minimizar el ruido de los bloques durante la prueba (Figura 1).

En la escala real se usan 100 bloques de madera, son cubos de 2.5 cm. En la escala original se utilizaban 150 [4]. Si nos fijamos en la sección de resultados, los sujetos sanos se quedaron en un rendimiento de aproximadamente 80 bloques, con lo cual probablemente por esto la escala real actual cuenta con 100 bloques.



Figura 1. Ejemplo de pie de figura

Las instrucciones del test son una ligera modificación del test original. La caja se localiza a lo largo del borde de una mesa estandarizada en altura. Cada sujeto se sienta en una silla estandarizada en altura enfrente de la mesa y de la caja. Los cubos están en el compartimento de la caja que se corresponde con la mano dominante del sujeto (en personas sanas). El examinador u observador del test se sienta enfrente de forma que pueda ver los bloques que se transportan. Un período de ensayo de 15 seg precede a la prueba. Después se retornan los bloques a su compartimento. Inmediatamente después, se comienza el test y antes de empezar, el sujeto pone las manos a ambos lados de la caja. A la señal, el sujeto coge solo un bloque a la vez con la mano dominante, lleva el bloque por encima de la partición y lo suelta en el compartimento contrario. Se cronometra el tiempo y se para después de 1 min. Entonces se repite el procedimiento con la mano no dominante. Después de terminar la prueba, el examinador cuenta los bloques antes de retornarlos al compartimento. Si el sujeto transporta dos o más bloques al mismo tiempo, solo se cuenta uno. Si el bloque rebota y cae al

suelo o a la mesa, cuenta como acierto. Si el bloque y los dedos no rebasan la partición, ese bloque no cuenta como acierto.

2.2. Desarrollo del BBT virtual

El BBT virtual se desarrolló en Unity3D, motor de videojuegos, que ofrece las prestaciones suficientes para cubrir nuestro objetivo y que posee la ventaje de contar con una amplia comunidad de desarrolladores.

El juego se compone de varias escenas. La escena *Game* es la principal del juego y está compuesta por:

- SceneElements: incluye la cámara principal de la escena, luces y sistemas de partículas.
- LeapElements: elementos que permiten la captación de los movimientos de la mano mediante el sensor Leap Motion
- GUI: interfaz de usuario.
- WoodBox: formado por la caja donde se colocarán los cubos y trigger utilizados en el juego.



Figura 2. Escena Game del BBT virtual

El script *PlayManager*, se encarga de controlar el juego de forma general, lanzar los eventos necesarios para que dé comiendo el juego, así como de gestionar los cambios como la finalización del juego. Esto incluye la actualización de los nuevos datos del nivel que se va a jugar o de la interfaz gráfica.

El componente principal es el modelo de la caja (*WoodBox*), realizado usando *Blender*, siguiendo las medidas descritas anteriormente en la descripción de la escala real, y añadiendo una textura imitando a la madera para mantener la semántica de la escala original. El modelo es exportado en formato FBX. Una de las particularidades de este objeto es que posee la característica *Kinematic*, es decir, que no maneja el motor de físicas. La caja, además, cuenta en su jerarquía con un *EmptyObject*, denominado "SourceCubes", posicionado estratégicamente en el punto en el que se crearán los cubos.

Para los cubos se ha construido un *prefab* en Unity, es decir, una plantilla a partir de la cual se pueden crear nuevas instancias del objeto.

Este prefab del cubo está constituído por distintos componentes, destacando los más importantes: *transform*,

con la escala indicada en el artículo o por el nivel de correspondiente; las componentes físicas *boxcollider* y *rigidbody*, el primero crea un objeto (en este caso con la forma de un cubo) para detectar las colisiones que tenga el objeto, y el segundo, que le añade físicas al objeto, como la masa o que le afecte la gravedad; y los script asociados, *GrabbableObject* y *CubeScript*, el primero proporcionado por la biblioteca de *LeapMotion*, asigna ciertas propiedades al *GameObject* para permitir un mejor agarre, y *CubeScript* que añade un material aleatorio dentro de un *array* de colores, con una posición y rotación aleatoria, para que el conjunto de los cubos dé sensación de diversidad y aleatoriedad. Además, cambia el color del cubo cuando este está agarrado, lo que facilita saber cuándo puede desplazarse.

Dentro de este *script* también se gestiona lo que ocurre cuando un cubo está en un lado o al otro de la caja, y si supera la barrera que separa ambos lado, así como los efectos de sonido de los cubos al chocar con la madera o al conseguir un punto.

Otro de los elementos principales es la interfaz de usuario. Está compuesto por muchos elementos:

- Título del nivel.
- Panel de instrucciones, con los vídeos explicativos que se ponen antes del juego.
- Elementos que componen la cuenta atrás de comienzo del juego (texto y barra de progreso).
- Botón y panel de selección de la mano que va a usarse.
- Elementos de feedback al paciente: barra de progreso del juego y barra de progreso plus, así como el reloj en cuenta atrás.
- Indicador de la puntuación (número de cubos).
- Panel resumen tras finalizar un nivel mostrando información sobre el mismo.
- Panel de guardar juego.

Se ha creado el objeto *MenuManager*, que se encarga de la gestión de todos los elementos que acaban de ser mencionados.



Figura 3. Interfaz de usuario

Siguiendo con la caja, hay dos objetos invisibles, situados en cada uno de los lados de la caja, y otro en la partición de la caja y subiendo en altura. La finalidad de dichos objetos es la siguiente: los tres funcionan como trigger cuando un objeto entra en contacto con ellos, dado que no poseen propiedades físicas y no ocupan espacio tiene lugar un evento, en este caso la contabilización de puntos al cruzar un cubo de un lado a otro, o añadiendo más cubos si el compartimento se queda vacío.

Los elementos *HandController* de Leap Motion permiten representar en la escena los modelos de las manos. En la escena de *Unity* se representa con un modelo del sensor y el área que abarca. Además, se indica el modelo virtual que tendrán las manos. A través de *PinchingRigidHand* y *PluginLeapNotice* son dos elementos que permiten que el gesto del agarre sea lo más correcto posible.

2.3. Variables analizadas

El análisis consiste en la ejecución de ambos BBT, el real y virtual, por un grupo de 12 personas sanas adultas. El test virtual requiere aclimatación al entorno, por lo que este test se realiza previamente dos veces a modo de aclimatación.

La variable resultado es el coeficiente de correlación entre ambas versiones del test obtenido a partir del análisis de dispersión entre el desempeño motor en ambos tests.

3. Resultados

En la comparación de la tendencia entre el desempeño de los participantes en ambos tests, el real y el virtual, se ha obtenido un coeficiente de correlación elevado y positivo (r=0.773), indicando que un mayor desempeño en el test real se corresponde también con desempeño mayor en el virtual (Figura 4).

A partir del diagrama se observa que aunque se mantiene la tendencia, el desempeño en el test real ha sido muy superior al del test virtual (media de 73.5 cubos en el real frente a 25.16 cubos en el virtual).



Figura 4. Diagrama de dispersión en análisis de correlación lineal entre BBT real y virtual

4. Discusión

En este trabajo se ha presentado una aplicación virtual del test Box and Block, pudiéndose analizar la relación

existente entre el desempeño en el BBT real y esta versión virtual del mismo en un grupo de personas sanas. Los resultados obtenidos sugieren que se mantiene la tendencia entre los resultados de ambos tests, de forma que un desempeño motor mayor en el test real se corresponde con un desempeño también mayor en el test virtual. Actualmente, este estudio se está ampliando en una muestra de pacientes con afectación de los aspectos motores de los miembros superiores tras haber sufrido una enfermedad neurológica, que en este caso se trata de lesión medular.

Estudios previos que también han presentado una virtualización del BBT, se han centrado en la patología del DCA y no han mostrado un análisis de dispersión con el test real. Por tanto, los resultados obtenidos en el análisis de correlación realizado entre ambos test, el real y virtual, no se han podido contrastar con otros estudios.

Además, la aplicación objetivo de este trabajo incorpora las fuentes de feedback necesarias para que el paciente sea consciente de su propia mejoría en sesiones consecutivas que pueda realizar. La barra de progresión indica el desempeño del paciente relativo a un patrón de referencia formado por un grupo de personas sanas. Así, el 100% de la tarea está calculado como la media de cubos que pasaron un grupo de personas sanas en ese tiempo y usando un tipo de pinza concreto. Con el objetivo de evitar el efecto techo se da la opción de obtener un resultado superior al patrón de referencia, pudiendo superar así el 100%. Otras fuentes de feedback visual son el número de cubos que pasa al otro lado de la partición y el contador temporal que controla la tarea en cuenta atrás.

No obstante el presente trabajo también presenta limitaciones. Algunas de ellas son inherentes a la tecnología utilizada, el Leap Motion, cuvo rendimiento está fuertemente condicionado por las condiciones del entorno y por las prestaciones del ordenador en el que se ejecuta. Las demás limitaciones se deben al desarrollo del entorno virtual en sí. Un ejemplo, es el objeto WoodBox que corresponde a la caja de madera. Inicialmente se quería que la caja de madera fuera controlada por el motor de físicas, al igual que los cubos, de forma que el modelo de la mano virtual encontrara oposición con la caja, es decir, que no pueda atravesarla y que agarre los cubos como objetos físicos, pero, tras contactar con los desarrolladores de Leap Motion para tratar la posibilidad de poner obstáculos en la escena que la mano no pueda atravesar nos informaron de que no está diseñado para ello porque rompería la presencia de la mano, por lo que las alternativas eran las siguientes:

- Dar propiedades físicas a la caja: esto supondría que la mano interacciona con la caja desplazándola y volcándola por lo que se descartó esta idea.
- Hacer que la caja fuera kinematic. Con este tipo de objetos la mano virtual no interactúa, por lo que la mano lo atraviesa. Se optó por desarrollar esta

alternativa, ya que los cubos sí contarán con propiedades físicas y eso obliga a los usuarios a realizar el movimiento completo, ya que si no, el cubo no atravesará las paredes de la caja.

Finalmente, se implementó la segunda opción.

5. Conclusión

La versión virtual del BBT desarrollada en este trabajo ha mostrado tener una elevada consistencia en su aplicación a una muestra de personas sanas. Los siguientes pasos consisten en su aplicación en una muestra de pacientes con Lesión Medular cervical para obtener su valoración en términos de destreza manipulativa por medio de este test virtual.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del Proyecto "Plataforma de bajo coste para rehabilitación del miembro superior basado en Realidad Virtual" 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] Oliveira CS, Almeida CS, Freias LC, Santana R, Fernandes G, Junior PRF, Moura RCF. Use of the Box and Block Test for the evaluation of manual dexterity in individuals with central nervous system disorders: a systematic review. *Manual Therapy, Posturology & Rehabilitation Journal Revista Manual Therapy, 14*, (2016).
- [2] Tiffin, J., & Asher, E. J. (1948). The Purdue Pegboard: norms and studies of reliability and validity. *Journal of applied psychology*, *32*(3), 234.
- [3] Jurgensen, C. E. (1943). Extension of the Minnesota Rate of Manipulation Test. *Journal of Applied Psychology*, 27(2), 164.
- [4] Mathiowetz V, Volland G, Kashman N, Weber K. Adult norms for the Box and Block Test of manual dexterity. *American Journal of Occupational Therapy*, 39(6), 1985, 386-391.
- [5] Shirota C, Balasubramanian S, Melendez-Calderon A. Technology-aided assessments of sensorimotor function: current use, barriers and future directions in the view of different stakeholders. *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, 16(1), 2019, 53.
- [6] Hsiao CP, Zhao C, Do EYL. The Digital Box and Block Test Automating traditional post-stroke rehabilitation assessment. In 2013 IEEE International Conference on Pervasive Computing and Communications Workshops (PERCOM Workshops) (2013, March) (pp. 360-363). IEEE.
- [7] Dall'Alba D, Dimbwadyo I, Piazza S, Magnabosco E, Menegozzo G, Fiorini P. ViTAS gaming suite: virtual therapy against stroke. In *Converging Clinical and Engineering Research on Neurorehabilitation II*, 2017 (pp. 407-411). Springer, Cham.
Análisis diagnóstico de afecciones cutáneas mediante el uso de Espectroscopía de Reflectancia Difusa

S. Buendia Aviles^{1,2}, M. Cunill Rodríguez¹, J. A. Delgado Atencio¹, J. L. Arce Diego², F. Fanjul Vélez²

> ¹ Grupo de Óptica Biomédica, Universidad Politécnica de Tulancingo, Tulancingo, México, {sonia.buendia.1731023,margarita.cunill,jose.alberto}@upt.edu.mx

² Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Santander, España {arcedj,fanjulf}@unican.es

Resumen

La espectroscopia de reflectancia difusa (ERD) es una técnica óptica no invasiva, relativamente sencilla de utilizar y que entre otras bondades nos permite estudiar el estado de salud de distintos tipos de tejidos biológicos. En este trabajo, nos enfocamos en estudiar las diferencias entre las firmas espectrales de la piel sana y las de regiones notablemente pigmentadas (nevos o lunares comunes) que pueden presentarse en un mismo individuo. Se estudiaron diez voluntarios con distintos fototipos de piel mediante la ERD implementada con una sonda de siete fibras ópticas colocada gentilmente en contacto y perpendicular con la región de estudio. Además, se evaluó los errores que se introducen en los espectros al variar el ángulo de la sonda en 5° y 10° respecto de la posición referida para así simular un ambiente clínico donde tales errores son posibles. Los resultados muestran que el margen de error permitido al momento de la colocación de la sonda de fibras ópticas durante aplicaciones clínicas de esta técnica, debe restringirse a valores de ángulos menores a 5°. Por otra parte, del estudio comparativo entre los espectros tomados en voluntarios a un ángulo de 0° para zonas pigmentadas y zonas normales de la piel, nos indica que el tamaño de la sonda de medición en comparación con la zona pigmentada a medir es otra fuente de error en la determinación absoluta de las diferencias espectrales entre ambas regiones, considerándose que una mejor comparación se podría realizar por medio de una sonda de dos fibras de dimensiones inferiores a 400 µm de diámetros colocadas paralelamente entre sí, y encapsuladas en un contenedor de diámetro del orden de 1 mm. Esto último permitirá investigar lesiones peaueñas eficientemente.

1. Introducción

En años recientes el desarrollo científico-tecnológico ha impulsado en gran medida el planteamiento y uso de herramientas de diagnóstico clínico preventivo, basadas en técnicas ópticas no invasivas, tales como: la tomografía de coherencia óptica, la fluorescencia inducida, imágenes multiespectrales e hiperespectrales, la espectroscopia Raman, la espectroscopia de reflectancia difusa, entre otros.

La espectroscopia de reflexión difusa (ERD) es una técnica óptica no invasiva, relativamente fácil de implementar, por lo que es ampliamente utilizada en aplicaciones biomédicas, puesto que nos permite obtener información sobre las propiedades de absorción y esparcimiento de un tejido biológico, que pueden ser empleadas para estudiar la morfología y fisiología del mismo, de forma tal que se puedan detectar, clasificar y diagnosticar enfermedades de la piel [1]. Entre las principales aplicaciones clínicas de la ERD se encuentran: obtención de las propiedades ópticas de la piel, medición del flujo sanguíneo, detección del cáncer de piel, cáncer de mama, clasificación entre tejidos sanos y enfermos [2].

El propósito principal de este trabajo es realizar un estudio preliminar para evaluar las diferencias entre los espectros de reflexión difusa de la piel sana y los nevos en 10 voluntarios de la Universidad de Cantabria, simulando un ambiente clínico. Esto, con el objetivo de estimar algunos de los errores experimentales que pueden cambiar la firma espectral de cada individuo, como lo es la variación del ángulo de incidencia del haz de luz sobre la piel. También, para corroborar que los cambios se deban solo a este factor, con la instalación experimental propuesta, se realizó inicialmente este estudio en materiales inertes, como la plastilina, en tres colores distintos (rojo, verde y azul) reportándose los errores encontrados.

2. Afecciones de la piel humana

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, que entre otras funciones, sirve como capa protectora para el resto de los órganos internos [3]. Sin embargo, casi nunca se le presta la atención y cuidados que demanda, viéndose reflejado en el constante incremento de enfermedades cutáneas durante los últimos años, especialmente en los distintos tipos de cáncer de piel.

Como se mencionó anteriormente, las afecciones de la piel han ido incrementándose, pero a pesar de ello, en su mayoría no suelen ser graves ni peligrosas para la salud con los cuidados pertinentes, sin embargo, los síntomas y reacciones derivadas de algunas de ellas llegan a ser molestos, sin considerar los daños en el estado anímico de quienes las padecen. Entre las afecciones más comunes se encuentran: el acné, la psoriasis, dermatitis, eccema, urticaria, verrugas y los diversos tipos de cáncer de piel [4].

Es de suma importancia poder identificar lesiones cancerígenas de forma no invasiva para el paciente, y poderlas diferenciar de aquellas lesiones benignas, siendo de nuestro interés lograr identificar sus firmas espectrales, así como las principales diferencias entre los nevos (o lunares comunes como se les conoce coloquialmente) y la piel sana como un primer paso, para su posterior clasificación y caracterización, respecto de las lesiones cancerígenas.

Los nevos son lesiones benignas pigmentadas, que la gran mayoría de las personas poseen, estos se presentan como una mancha de color marrón obscuro (este color se debe a la presencia de melanina) aunque existe una gran variedad de presentaciones que difieren con esta descripción. De manera semejante, existen lesiones que pueden parecerse a un nevo, por ello se recomienda que ante cualquier cambio de estas lesiones (color, tamaño, volumen) así como la presencia de dolor, o cualquier sospecha de malignidad, se acuda al médico especialista para su evaluación y prevenir complicaciones futuras.

3. Instalación experimental

3.1. Sistema de adquisición de espectros de reflexión difusa

La Figura 1 muestra la configuración experimental empleada para la toma de espectros de reflexión difusa en los fantomas de plastilina, mientras que para la toma de espectros en voluntarios se utilizó otra fuente de luz, sin composición espectral apreciable en la región ultravioleta para evitar daños a la piel de los mismos.



Figura 1. Esquema del montaje experimental.

El sistema se compone de una fuente de luz de deuteriotungsteno (Hamamatsu L10671, Hamamatsu Photonics para los fantomas y la fuente QTH 66499, Newport, para mediciones en voluntarios), que emite entre 200-1600 nm, conectada a una sonda (R600-8-UVVIS-SR, StellarNet Inc) y un espectrómetro (BLK-CXR-SR-50, StellarNet Inc.), con una resolución óptica de 0,5 nm y un detector CCD / PDA de 2048 píxeles con 14x200 μ m / pixel.

El ángulo entre la sonda de fibra óptica y la normal a la superficie se estableció a 0° , 5° y 10° para los fantomas a base de plastilina, mientras que para los voluntarios participantes en este estudio se capturaron espectros a 0° y a 10° .

3.2. Captura de espectros

Se emplearon tres muestras de material plástico para modelar (plastilina), las cuales correspondían a los colores del sistema RGB (Rojo, Verde y Azul). Se moldearon 3 cilindros de aproximadamente 180 gramos, con una altura y diámetro de 6 cm x 3.5 cm.

Las mediciones en los nevos y la piel sana, se efectuaron en una serie de 10 voluntarios (entre personal docente y alumnado de la Universidad de Cantabria), mismos que avalaron su participación en dicho estudio mediante la firma del documento de consentimiento informado, para dichas mediciones. Además, los voluntarios participaron en el llenado de una encuesta dirigida a que profundizáramos más acerca de los fototipos de piel de los voluntarios.

4. Resultados y discusión

La Figura 2 muestra los resultados obtenidos para uno de los voluntarios, para cada uno de ellos se realizó mediciones en dos zonas de interés (un nevo y una zona sin nevo cercana a éste), obteniendo en la mayoría de ellos una menor reflectancia en la zona pigmentada, tal como se encuentra reportado (nevo o lunar), indistintamente del fototipo de piel del voluntario.

$$Error\% = \left(\frac{VM - VV}{VV}\right) * 100 \tag{1}$$



Figura 2. Espectros típicos del comportamiento de las diferencias entre un nevo y la piel sana, en todo el rango espectral.

Posteriormente se calculó el error relativo porcentual con la fórmula anterior (1), con la finalidad de observar las regiones espectrales donde se presenta mayor diferencia entre el nevo y la piel sana, en la región espectral de 400-750 nm, para este caso omitimos el cálculo en valores absolutos para una mejor apreciación de la tendencia.



Figura 3. Error relativo porcentual obtenido respecto de los valores registrados para un nevo.

En la Figura 3 se muestra el error correspondiente para los espectros de la Figura 2, donde se aprecia una máxima diferencia entre la zona con nevo y la zona sin nevo a 445 nm con un valor de (-69.75%), mientras que el mínimo error se encuentra a 750 nm (-13.70%). Para el resto de los

voluntarios se obtuvieron resultados similares al mostrado. Sin embargo, también se presentaron algunos casos atípicos (voluntarios 8 y 10) en cuanto a esta tendencia. En la Figura 4 se muestra el comportamiento de los espectros de la zona sana y pigmentada que resulta atípico a los ya mostrados anteriormente.



Figura 4. Espectros atípicos, del comportamiento de las diferencias entre un nevo y la piel sana, en todo el rango espectral.

Se puede observar en dicha figura que muestran una diferencia notable en comparación con el resto de los voluntarios, al presentar intervalos con una mayor reflexión para la zona pigmentada (nevo), contrario a lo esperado, esto puede deberse, posiblemente a que el tamaño del nevo medido en cuestión (3 mm y 1.8 mm), es notablemente mucho menor que el valor del diámetro de la sonda empleada (6.35 mm, con una fibra emisora de 600 μ m y 6 colectoras de 400 μ m). Por otra parte, también consideramos la presencia de vello como otro factor que puede influir notablemente en las mediciones realizadas debido a que puede obstruir de forma apreciable el área de las fibras ópticas de la sonda de medición.



Figura 5. Error relativo porcentual para un caso atípico.

Como se aprecia en la Figura 5, ahora se observan, contrario a la Figura 3, valores positivos para el error relativo definido previamente. Los errores entre la zona con nevo y la zona sin nevo a 443 nm, para este caso en particular, fue de -8.10%, mientras que el mínimo error se encontró a 400 nm siendo de 16.15%.

A partir de las mediciones recabadas en los voluntarios (gráficas no mostradas) pudimos apreciar que la gran

mayoría de los espectros de reflexión difusa medidos a cero grados presentan una notable diferencia entre ambas zonas de la piel analizadas, obteniéndose un máximo error relativo en la región de altas frecuencias correspondientes a valores de lambdas entre los 400 – 450 nm (V1-69.75% a 445 nm, V2-45.60% a 425.5 nm, V5-56.82% a 430.5 nm, V6-55.03% a 400 nm), mientras que los mínimos de error se encontraron a valores de lambdas cercanas al infrarrojo (V1-13.70% a 750 nm, V2-6.95% a 750 nm, V4-33.53% a 750 nm, V5-1.64% a 600 nm).

En la Figura 6 se muestran los espectros obtenidos para una misma zona de la piel de un voluntario (zona sana), medidos a dos ángulos de incidencia (0° y 10°), siendo este tipo de comportamiento el representativo para los 10 voluntarios estudiados. Como se puede notar, la forma de los espectros es la misma, pero con una menor reflectancia para el ángulo mayor. Para evitar la influencia de la propia presencia del nevo sobre la forma del espectro, en esta parte del estudio no se realizaron mediciones sobre dichas zonas de la piel de los voluntarios. En la Figura 7 se presenta el error relativo porcentual entre ambos espectros. Como se puede observar se alcanza un máximo error de -17.08% a 400 nm y un mínimo error a 439 nm de -5.30%, así mismo podemos notar que para el resto del espectro, este error tiende a permanecer prácticamente constante en el intervalo espectral de 600-750 nm.



Figura 6. Espectros típicos de la piel sana en todo el rango espectral, con la sonda colocada a 0 y 10 grados, respectivamente.



Figura 7. Error relativo porcentual obtenido para la influencia del ángulo en una misma zona.

En la Figura 8 se muestra, a modo de ejemplo para la plastilina de color rojo, el resultado de la comparación de los espectros medidos a diferentes ángulos de la sonda óptica respecto a la normal de la superficie de los fantomas de plastilina. El comportamiento espectral para cada uno de los tipos de plastilina medidos fue único.



Figura 8. Espectros obtenidos para la plastilina de color roja, en tres ángulos de incidencia, para un mismo punto.

Tal como se comentó en la introducción de este trabajo se realizaron medidas similares a las realizadas en los voluntarios a los fantomas de plastilina, para visualizar las diferencias entre las mediciones realizadas a una muestra inerte en la cual tenemos un mayor control de las variantes que intervienen en su respuesta, caso contrario a los voluntarios donde existe un mayor número de factores que influyen en la medición espectral como son: el tamaño del nevo, el fototipo de la piel, el flujo sanguíneo y los movimientos involuntarios, entre otros.



Figura 9. Error relativo porcentual obtenido para 5° y 10° respectó de los valores a 0°, para la plastilina de color rojo.

También se puede observar en la Figura 8 que la forma del espectro se mantiene independientemente de la inclinación de la sonda, al menos para los ángulos a los que se realizó la medición (0, 5 y 10 grados).

5. Conclusiones

El estudio de la influencia del ángulo de medición sobre los espectros de reflexión difusa, arroja que el margen de error

permitido durante la colocación de la sonda de fibras ópticas en un ambiente clínico, podría restringirse a valores de ángulos menores a 5°. Consideramos que dicho estudio debe realizarse en detalle para ángulos comprendidos en el intervalo 0-5° y precisar así los errores que se comenten para ángulos más probables al usar la ERD en un escenario clínico. Por otra parte, el estudio comparativo entre los espectros tomados in-vivo a un ángulo de 0° en los nevos y en las zonas de la piel sana, mostró que en la mayoría de los casos es posible establecer diferencias espectrales significativas. Sin embargo, identificamos que el tamaño actual de la sonda de medición (6.35 mm), en comparación con las zonas pigmentadas medidas (1.3 a 5.2 mm) es un factor relevante en la determinación absoluta de las diferencias espectrales entre ambas regiones. Este aspecto del estudio se puede superar usando, por ejemplo, una sonda de dos fibras ópticas diseñada artesanalmente colocadas paralelamente entre sí y encapsuladas en un contenedor de diámetro del orden de 1 mm, siendo posible investigar lesiones pigmentadas pequeñas de forma precisa.

Agradecimientos

Los autores agradecemos al CONACyT, México, por apoyar la estancia de investigación en la Universidad de Cantabria, España, de la estudiante Sonia Buendía Avilés, quien realiza sus estudios de Maestría en Computación Óptica en la Universidad Politécnica de Tulancingo, Hidalgo, México.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Modificación mediante alta presión de las propiedades plasmónicas y luminiscentes de nanopartículas de metales y óxidos desnudas y recubiertas" (PGC2018-101464-B-I00), del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- Orozco Guillén EE. Diagnóstico de lesiones en la piel a partir de espectros de reflexión difusa empleando algoritmos computacionales: un estudio preliminar, Tesis doctoral del Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica. 2009
- [2] Wallace V P, et al. Spectrophotometric assessment of pigmented skin lesions: methods and feature selection for evaluation of diagnostic performance, Phys. Med. Biol. Vol 45. 2000.
- [3] Advancing Science Serving Society. (s.f.). Sistema tegumentario. Recuperado el 21 de Junio de 2019, de http://sciencenetlinks.com/student-teachersheets/integumentary-system/
- [4] Durocher LP. Enfermedades de la piel, enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. https://www.insst.es/documents/94886/161958/Cap% C3%ADtulo+12.+Enfermedades+de+la+piel

Surface reconstruction through thermal images to use it as prior information in iterative reconstruction algorithms

A. Piol^{1,2}, P. M. Berdón¹, E. F. Maraver¹, C. Rivero¹, M. Desco^{1,2,3,4}, M. Abella^{1,2,3}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Dept. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España

3 Centro Nacional Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

Abstract

In conventional cone beam computed tomography systems, the source-detector pair rotates around the patient through 360 degrees (full angular span) to acquire generally more than 360 projections. Sometimes, only a low number of projections can be acquired and/or a smaller span angle can be covered by the machine, due to movement limitations. In these scenarios the 3D image reconstruction may be affected by severe artifacts. The lack of information can be compensated by using iterative reconstruction algorithms introducing prior assumptions to help restricting the solution search space. The sample surface, which could be obtained with a 3D scanner just before the CT acquisition, would provide good prior information. The problem with a 3D scanner is the difficulty in acquiring some kind of surfaces, as shiny surfaces, in which the light scatters and bounces in uncontrollable directions. Moreover, many times patients are covered by cloaks or clothes, which prevent the scanner light to reach directly the interested surface. This work presents an alternative approach by using an infrared camera. Evaluation on small-animal data shows that two-dimensional thermal images can be used to obtain the surface mask, with the purpose to use it as prior information in iterative reconstruction algorithms ..

1. Introduction

In cone beam computed tomography (CBCT) systems source and detector rotate simultaneously around the patient, generally covering a complete span angle of 360 degrees, to acquire a set of planar radiographies from different view angles. In this case, the three-dimensional image reconstruction can be done through simple filteredbackprojection algorithms [1], reaching a good image quality.

There are situations in which the minimum span angle for an exact reconstruction may not be possible, due to movement limitations as in the surgery room, where the patient is connected to monitoring equipment. A high step angle or an insufficient span angle results streak artifacts and edge distortions that can hinder the correct diagnosis. A possible solution to compensate this lack of data is the use of new advanced iterative reconstruction methods that include prior assumptions in order to restrict the search space and find an optimal solution. In some applications, these prior assumptions can be based on a preliminary reconstruction of a complete dataset such as in respiratory or cardiac gating [2]. However, in static CT with limiteddata this type of information is not available, thus being advisable to find a different prior. Another option for the prior data is to assume the non-negativity of the solution or to restrict the search field to the field of view (FOV). In [3], the sample contour was proposed as prior information, as support, in order to further restrict the search space. Figure 1 shows an example of the result of applying that methodology to reconstruct limited data (only 70 projections and 140 span). As it can be seen in the figure, the use of the advanced reconstruction method including the surface mask compensates the lack of data, achieving an image quality close to the gold standard (360 projections and 360 span).



Figure 1. Axial slice of a small-animal thorax study. Left: Reconstruction of limited data using FDK-based reconstruction. Center: Reconstruction of limited data using advanced iterative reconstruction including the surface information. Right: FDKbased reconstruction of full data (gold standard).

The work in [3] uses a 3D structured light scanner, which is a fast and easy way to measure the three-dimensional shape of an object, but provides the real surface of the sample only if the interested surface can be directly reached by the light emitted from the device. In surgery, for example, patients may be covered by dedicated made cloaks, for sanitary purposes, and the 3D light scanner would not provide the real surface of the patient. If the cloak material satisfies specific spectral conditions, the patient surface could be analyzed without removing the cloak, using thermal imaging, defined as the conversion of infrared radiation (heat) into visible images. Since temperature is considered a useful marker of various diseases, thermal cameras are currently used in the medical field. Despite this, the use of thermal images in the medical field is generally limited to the 2D space; they can be used for detecting inflammations and changes in microcirculation, indices of diseases as cancers [4] or diabetes [5]. In the case of 3D clinical thermography, reconstructions which include thermal information are only obtained by adding the thermal data to a previous obtained 3D model, as in [6].

In this work, we present the evaluation of the use of a thermal camera to reconstruct the sample surface, with the possibility of using it as prior data in advanced iterative reconstruction methods.

2. Materials and methods

The evaluation was done on a rodent chest study, comparing an ideal mask with the masks obtained from surface analysis, which was done in two different ways: (1) by acquiring thermal images, which were successively processed, and (2) by acquiring directly the contour information with a 3D light scanner. The ideal mask used as reference was obtained by thresholding from the CT image (Figure 2).



Figure 2. Axial view of the reference FDK reconstruction (left) and the correspondent mask of the same slice (right).

We need detectable landmarks for helping in the thermal surface reconstruction and for the image registration process between the surface masks and the ideal mask. To this end, we added five ceramic round markers on the rodent. Ceramic markers have been chosen for the different thermal emissivity they have with respect to the animal skin (fur), which results in a difference in color in the thermal images. These five markers were located on the back of the rat, two near the neck and three in row in the lower part of the back, avoiding the lung region, in which the CT field of view was centered. Figure 3 shows the animal ready for the acquisitions.



Figure 3. Rodent set up for the acquisitions. Ceramic markers are placed over a medical tape for a better stability.

Thermal images were acquired using a *FLIR SC2000* thermal camera, which has a detector of 320×240 thermal sensors array. Since the device only permits video acquisitions, images were extracted as video frames in post processing using video editing. The video was acquired trying to cover each part of the rodent from different positions and distances, in order to reduce the errors and deformations in the reconstructed surface. We also made a thermal acquisition of the animal covered by a simple white plastic bag. Figure 4 shows how the plastic bag does not affect the rodent visualization, while it would prevent the surface extraction with the structured light scanner.



Figure 4. Animal covered with a plastic bag (left), thermal image of the rodent under analysis not covered (center) and covered by a plastic bag (right).

The 3D reconstruction software for thermal images we used, the *3DF Zephyr* (3D Flow, Italy), is based on finding common critical points within the images, in order to obtain the different angle views from where the various photos have been taken and, hence, to combine them in a three-dimensional model. The surface was extracted using fifty thermal images. The look up table (LUT) of the images was found to be critical for the software performance, and best results were found by converting the standard thermal LUT into greyscale images.

We compared the 3D surface obtained with the thermal images with that obtained with the *Artec Eva* 3D structured light scanner, which comes with a dedicated software to process the acquired data.

Figure 5 shows the surfaces obtained with the two methods. Meshes were cleaned and cropped to be similar in dimensions to the reference CT volume (Figure 5, bottom panel).



Figure 5. Top: raw surfaces obtained with the Artec 3D structured light scanner (left) and with the FLIR SC2000 thermal camera (right). Bottom: cleaned and cropped surfaces obtained with the Artec 3D structured light scanner (left) and with the FLIR SC2000 thermal camera (right).

The animal was finally acquired with the *Argus* micro-CT (SEDECAL), obtaining 360 projections, covering the entire span angle of 360 degrees. The 3D image was reconstructed with Mangoose, an FDK-based algorithm [7, 8], using all the acquired projections and resulting in a $514 \times 514 \times 574$ volume without artifacts (reference volume).

We used *3D Slicer* [9] to perform a fiducial registration between the reference CT volume and, individually, the two surface models. The registration was performed in the same way for both thermal and light-scanner surfaces. First, a rough manual alignment of the surface model with the reference volume was done. Figure 6 shows the coronal view in which the reference volume and 3D scanner surface model (transparent green) are overlapped.



Figure 6. Coronal view of the 3D scanner surface model (transparent green) overlapped with the FDK reference volume after rough manual alignment.

The ceramic markers were used as landmarks during the creation of the registration transform, which position was marked manually in the 3D space. Figure 7 shows the landmarks in the 3D space, before generating the transform. The similarity transform was created based on the spatial position of the red markers, which are referred to the 3D surface model, with respect to the blue ones, which are referred to the reference volume.



Figure 7. Landmarks visualized in the 3D space. Blue markers refer to the FDK reference volume. Red markers refer to the 3D scanner surface model.

The cost function for the transform is based on the distances between the landmarks that represent the same critical points; the final quality of the registration is quantified as the root mean square error (RMSE [mm]), that represents a similarity parameter between the two set of markers.

Since the 3D surface model exceeds the reference FOV in the longitudinal axis, during the registration step that excess is automatically cropped and the model is adapted to the reference volume FOV.

The surface masks obtained with both methods (thermal and scanner based) were compared with the reference volume (CT reconstruction), based on the Dice-Sørensen coefficient (DSC) [10]:

$$DSC = \frac{2 \cdot |X \cap Y|}{|X| + |Y|} \tag{1}$$

where X and Y are the two logical volumes to be compared. The Dice-Sørensen coefficient range is 0 (minimum/null similarity) to 1 (identical volumes).

3. Results

Figure 8 shows the 3D surface model obtained from the thermal images (green) overlapped to the final registered

mask (gray/white), in the three projection planes. We can see differences in orientation and scale after the registration step, due to the transform we applied. In the axial plane (top-left panel) we can see how the thermal surface model was subjected to a translation. In the bottom-left panel we can see that the transform rotated the surface model in the sagittal plane. The thermal surface model presents a not well detailed profile, but it is possible to identify the mice ears in the left border of the model shown in Figure 8 (topright panel).



Figure 8. Screenshot of Slicer3D interface. The 3D segmented thermal surface model (top-right panel) is visualized together with the registered mask within the three views: axial (top left), sagittal (bottom-left) and coronal (bottom right).

The obtained similarity transform for thermal images based registered mask gave a RMSE of 1.24953 mm. Figure 9 shows the same scenario of the Figure 8 but for the 3D scanner surface model. This surface is smoother than that of the thermal images, but even in this case some details are lost. In fact, the ceramic markers are not well highlighted. As we can see in Figure 9, even in this case in the axial plane the created transform brought a translation and a small rotation of the surface model. In sagittal and coronal planes (bottom panels of Figure 9) we can also see a little translation of the surface model.



Figure 9. Screenshot of Slicer3D interface. The 3D segmented surface model (top-right panel) is visualized together with the registered mask within the three views: axial (top left), sagittal (bottom-left) and coronal (bottom right)

The obtained similarity transform for the 3D scanner based registered mask gave a RMSE of 1.4794 mm.

The registered masks have the same dimensions as ideal one, which is $514 \times 514 \times 574$ with a voxel size of 0.123 mm.

The Dice-Sørensen coefficients were calculated between the ideal mask and both the registered masks and they are shown in Table 1. The results show a higher similarity of the light scanner surface mask with the ideal one.

Light scanner DSC	Thermal DSC
0.7787	0.7463

Table 1. Dice-Sørensen similarity coefficients.

4. Discussion and conclusions

In this work we have evaluated the use a thermal camera to reconstruct the sample surface, with the purpose of using it as prior data in advanced iterative reconstruction algorithms, and compared the results with those obtained with a structured light scanner.

The structured light scanner, previously used for the same purpose, has a great handling, but sometimes the animal fur does not reflect perfectly the light, causing imprecisions and lack of data in the reconstructed surface. Moreover, every visible object placed between the device and the sample compromises the correct surface analysis. The latter can be solved using a thermal camera, given that several materials can be bypassed by the infrared wavelengths, depending on the spectral response of the thermal sensors of the camera.

The Dice-Sørensen coefficients are affected by the fact that the ideal surface, obtained from the FDK reference volume by segmentation of the total FOV, includes the CT bed, which was not represented in the surface-based masks. To obtain a more accurate solution search space when using iterative reconstruction methods, it would be advisable to include the bed in the surface mask, which can be easily obtained from a preliminary CT acquisition without the sample. Another source of error is the fact that the animal fur is not included in the ideal surface, while it is included both with the thermal camera and the structured light scanner. This error could be solved by the careful erosion of the obtained masks.

Regarding the acquisition of the thermal images, the thermal camera used was not particularly easy handling for our purpose, due to its weight, dimensions and all the connected cables. This discomfort, together with a thermal noisy environment, results in a lack of important view angles, (particularly from the sides) which could have hindered the correct generation of surface. An easier to handle camera and a more coherent environment set up would provide better results in future experiments.

The ceramic markers were not perfectly identified during the position of the landmarks, causing imprecisions when generating the fiducial registration transform. In Figure 8 we see a big rotation in the sagittal plane, which can be due to an inaccurate positioning of the landmarks before generating the transform. These errors in the alignment may explain the higher Dice-Sørensen coefficient for the case of the thermal mask. Further work is needed to improve this step.

Acknowledgments

This work has been supported by Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, Agencia Estatal de Investigación, projects "DPI2016 79075 R AEI/FEDER, UE ", Instituto de Salud Carlos III, project "DTS17/00122 ", co funded by European Regional Development Fund (ERDF), "A way of making Europe" Europe". The CNIC is supported by the Ministerio de Ciencia , Innovación y Universidades and the Pro CNIC Foundation, and is a Severo Ochoa Center of Excellence (SEV 2015 0505).

References

- [1] L. A. Feldkamp, L. Davis, and J. W. Kress, "Practical cone-beam algorithm," *Josa a*, vol. 1, pp. 612-619, 1984.
- [2] J. F. Abascal, M. Abella, E. Marinetto, J. Pascau, and M. Desco, "A novel prior-and motion-based compressed sensing method for small-animal respiratory gated CT," *PloS one*, vol. 11, p. e0149841, 2016.
- M. Abella, C. de Molina, N. Ballesteros, A. García-Santos, Á. Martínez, I. Garcia, *et al.*, "Enabling tomography with low-cost C-arm systems," *PloS one*, vol. 13, p. e0203817, 2018.
- [4] H. G. Zadeh, J. Haddadnia, and A. Montazeri, "A model for diagnosing breast cancerous tissue from thermal images using active contour and lyapunov exponent," *Iranian journal of public health*, vol. 45, p. 657, 2016.
- [5] A. Selvarani and G. R. Suresh, "Infrared Thermal Imaging for Diabetes Detection and Measurement," *J Med Syst*, vol. 43, p. 23, Jan 2 2019.
- [6] R. F. van Doremalen, J. J. van Netten, J. G. van Baal, M. M. Vollenbroek-Hutten, and F. van der Heijden, "Infrared 3D Thermography for Inflammation Detection in Diabetic Foot Disease: A Proof of Concept," *Journal of diabetes science and technology*, p. 1932296819854062, 2019.
- [7] J. G. Blas, M. Abella, F. Isaila, J. Carretero, and M. Desco, "Surfing the optimization space of a multiple-GPU parallel implementation of a X-ray tomography reconstruction algorithm," *Journal of Systems and Software*, vol. 95, pp. 166-175, 2014.
- [8] M. Abella, J. J. Vaquero, A. Sisniega, J. Pascau, A. Udias, V. Garcia, *et al.*, "Software architecture for multi-bed FDK-based reconstruction in X-ray CT scanners," *Comput Methods Programs Biomed*, vol. 107, pp. 218-32, Aug 2012.
- [9] A. Fedorov, R. Beichel, J. Kalpathy-Cramer, J. Finet, J. Fillion-Robin, S. Pujol, *et al.*, "3D Slicer as an image computing platform for the quantitative imaging network," *Magn Reson Imaging*, vol. 30, pp. 1323–41, 2012.
- [10] T. J. Sørensen, A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on Danish commons, 1948.

Development of an image processing algorithm for the diagnosis of chronic thromboembolic pulmonary hypertension

P. Cara¹, A.P. Seiffert¹, P. Pilkington², A. Gómez-Grande², E.J. Gómez^{1,3}, P. Sánchez-González^{1,3}

¹Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; paula.caraa@alumnos.upm.es, {aseiffert, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; patrick_pilkington@yahoo.com, adolfogomez@gmail.com

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Abstract

A severe variant of pulmonary hypertension is a chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) that is related to acute pulmonary embolism. The current diagnosis is performed by visual analysis of single-photon emission computed tomography (SPECT) ventilation and perfusion images. A mismatch of defects that are only present in the perfusion image confirms the diagnosis. This paper presents an algorithm to diagnose CTEPH based on the comparison of the volumes extracted from both SPECT images. The algorithm is designed to also differentiate between cases of CTEPH and a respiratory pathology. A total sample of 32 patients is divided into three groups depending on their diagnosis: (1) reference, (2) CTEPH and (3) respiratory pathology. Reference values of segmentation thresholds and lung volumes are obtained from the first group. These volumes are then used to define thresholds for the classification of the cases of groups two and three. After segmenting the SPECT images and calculating the volumes of ventilation and perfusion, these thresholds are applied to determine the diagnosis. Even though a small patient database is used, the results indicate that the quantitative analysis of SPECT ventilation and perfusion images can support the diagnosis of CTEPH.

1. Introduction

Pulmonary hypertension (PH) is a group of diseases defined as an increase in mean pulmonary arterial pressure (PAP) greater than 25 mmHg at rest. It is characterized by persistent constriction or blockage of the arteries, hindering blood flow to the lungs and causing chronic PAP elevations. The increase in PAP induces a right cardiac overload, which weakens the cardiac muscle, generating right ventricular pressure dysfunction [1, 2].

Chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) is a severe variant of PH that is caused by chronic occlusion of the pulmonary arteries and arterioles by organised blood clots, followed by progressive vascular remodelling of small unobstructed vessels [3]. It is also accepted that CTEPH is related to acute pulmonary embolism (PE). In Spain, the diagnosed incidence is reported at 3.4 cases per 100,000 population per year. Data from 5 European countries show incidences ranging from 66 to 101 cases per 100,000 population per year [4].

Currently, the diagnosis is carried out through a comparative visual analysis of single-photon emission computer tomography (SPECT) ventilation and perfusion (V/Q) images. To assess the presence of pulmonary thromboembolism, areas of hypoperfusion not concordant with areas of hypoventilation are identified. The existence of defects, of triangular morphology with peripheral base, in the pulmonary parenchyma of the pulmonary perfusion image, which are not present in the pulmonary ventilation image, confirms the diagnosis of CTEPH [5].

The interpretation of the images allows to determine the presence of CTEPH or other respiratory pathology, according to the following criteria [3]:

- Positive CTEPH diagnosis: Presence of at least one segmental defect or two sub-segmental perfusion defects not consistent with ventilation in pulmonary SPECT images.
- Negative CTEPH diagnosis: Normal perfusion in which the edges of the lung are preserved or presence of concordant defects in both the ventilation and perfusion.
- Respiratory pathology: Presence of defects in the ventilation image that are not concordant with the perfusion.

This work proposes a new image processing algorithm for the diagnosis of CTEPH and to differentiate it from respiratory pathologies. The algorithm is based on the analysis of SPECT ventilation and perfusion images and the guidelines for the visual inspection of the images defined by the European Association of Nuclear Medicine (EANM) [3] and the European Society of Cardiology (ESC)/European Respiratory Society (ERS) [5].

2. Materials and Methods

2.1. Subjects

This retrospective study is conducted from a database of patients whom, between June 2017 and May 2019, were hospitalized with suspected CTEPH, as an initial diagnosis, at the *Hospital Universitario 12 de Octubre* in Madrid, Spain. For the final study group, 32 patients areselected based on the following inclusion criteria: (1) suspicion of CTEPH as an initial diagnosis at first appearance, after remitting symptoms such as chest pain and dyspnea, (2) SPECT image tests of pulmonary V/Q and TC of pulmonary arteries, and (3) confirmation diagnosis of old CTEPH with or without recent improvement in pulmonary perfusion. The exclusion criteria are: (1) absence of any of the tests described above, (2) V/Q SPECT study with artefact,

(3) inconclusive or indeterminate studies, and (4) radiotracer accumulations in specific points of the pulmonary parenchyma during the ventilation study caused by the presence of excess mucus.

The sample of 32 patients is divided into three groups according to the diagnostic criteria given by physicians specialised in nuclear medicine from the *Hospital Universitario 12 de Octubre* (see *Table 1*). The three groups are: (1) reference, (2) CTEPH, and (3) respiratory pathologies. The reference group is composed of 10 patients that do not show any non-concordant defect in the pulmonary V/Q SPECT images, so they are assumed as patients with normal lung function or patients with concordant defects in both images. The diagnosis of CTEPH is confirmed in 12 patients. The 10 patients that compose the third group are diagnosed with some type of respiratory pathology including chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and chronic bronchitis, or some type of PH without thromboembolism.

	Ν	Gender (m/f)	Age $(y \pm SD)$
Reference	10	2/8	61.40 ± 9.74
CTEPH	12	8/4	61.50 ± 13.44
Respiratory pathology	10	2/8	70.10 ± 13.51
Total	32	12/20	64.16 ± 12.82

Table 1: Demographics of the study population

2.2. Image Acquistion

SPECT images are provided by the department of nuclear medicine of the Hospital Universitario 12 de Octubre. The images were acquired using a SKYLight gamma camera (Philips, Amsterdam, Netherlands) with a Low Energy All-Purpose (LEAP) collimator. During the 360° circular rotation of the gamma camera in "step and shoot" mode, 64 projections were acquired, each with a duration of 30 seconds. Ventilation studies were performed after airway administered 99mTc-Technegas. The aerosol was inhaled by the patients for 15-20 minutes through deep, slow breaths with 5-second pauses between each breath. For the pulmonary perfusion study, 5 mCi of technetium macro aggregated albumin (99mTc-MAA) was administered intravenously. The images had a matrix size of 64×64 and were processed at a JETStream Workspace version 3.0 (Philips, Amsterdam, Netherlands) workstation.

2.3. Image Analysis

SPECT images are analysed using MATLAB R2018b (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, USA). All analyses are performed for each lung separately due to the anatomical differences between the left and right lung [6]. Discordant perfusion defects are quantified using a threshold-based segmentation of the lung volume in both ventilation and perfusion images. The segmentation includes all voxels above a specified percentage of the maximum intensity present in the SPECT images. High difference values between both volumes (V_{V-P}) are defined as being indicative of said discordant defects. Image analysis is divided into two steps: (1) calculation of reference values, and (2) application in pathological cases that correspond to the second and third group of the subject database to validate the algorithm. The methodology is shown in *Figure 1*.



Figure 1: Methodology

Calculation of reference values. In order to obtain reference values of normal or concordant lung volumes, at first the images of the reference group are analysed. A total of 4 reference values per lung are calculated based on the images. These are:

- Optimal segmentation thresholds for the ventilation images.
- Optimal segmentation thresholds for the perfusion images.
- Mean V_{V-P} of all the subjects of the reference group (Mean(V_{V-P, ref})) for the optimal segmentation thresholds.
- Minimum V_{V-P} of all the subjects of the reference group (Min(V_{V-P, ref})) for the optimal segmentation thresholds.

The four optimal segmentation thresholds are determined by iteratively segmenting the lungs with different values defined between two thresholds and calculating the volumes. The images are segmented until the lowest average of volume differences of the group was obtained. Finally, the lowest V_{V-P} is then calculated employing the optimal segmentation thresholds determined previously.

Application in pathological cases. In order to classify a pathological case, the Mean($V_{V-P, ref}$) and Min($V_{V-P, ref}$) values are used to establish normal margins in order to determine the diagnosis of these pathological cases. Moreover, once the optimal segmentation thresholds are obtained, these values are applied to calculate V_{V-P} of pathological patients.

Firstly, to establish the difference between patients with a CTEPH diagnosis and patients that present some type of respiratory pathology, the sign of V_{V-P} needs to be taken into account. In the same way that the volume of perfusion decreases in patients with CTEPH, in patients with respiratory pathologies the decrease in volume occurs in the ventilation phase. Therefore, a positive value of V_{V-P} is indicative of CTEPH and a negative value represents a lower volume in the ventilation image than in perfusion.

Once V_{V-P} of the patient is obtained, $Mean(V_{V-P, ref})$ and $Min(V_{V-P, ref})$ are compared to the absolute values of V_{V-P} to determine the existence of CTEPH or respiratory pathology. Both values are taken into account as the volumes obtained from the ventilation and perfusion images are not exactly the same even in normal cases or when presenting concordant defects. Thus, in order to establish a V_{V-P} large enough to indicate a positive CTEPH diagnosis or the presence of some type of respiratory pathology, the following conditions are defined:

- Volume difference values between ventilation and perfusion, which are above the mean reference V_{V-P} value, indicate a positive diagnosis.
- Volume difference values between ventilation and perfusion, which are below the mean reference V_{V-P} value and above the minimum reference V_{V-P} value, indicate suspicion of CTEPH or respiratory pathology, whose diagnosis cannot be ruled out but will require a complementary visual analysis to confirm the positive diagnosis of CTEPH.
- Volume difference values between ventilation and perfusion, which are below the minimum reference V_{V-P} value, indicate a negative diagnosis.

Finally, the validation is carried out by applying the algorithm to the pathological cases. The segmentation of the lungs is performed, and the volumes are calculated. The difference $V_{V,P}$ is then calculated for each lung and the previously defined classification methodology is applied to obtain a diagnosis. To evaluate the accuracy of the algorithm we calculated the sensitivity and the false negative rate (FNR) of the classification because we applied the algorithm in each group separately. A case is considered correctly classified if the algorithm cannot rule out a positive diagnosis.

3. Results and Discussion

3.1. Calculation of reference values

The search for the optimal segmentation thresholds is realized between 14% and 22% increasing the thresholds by 1% in each iteration. The upper and lower thresholds are defined after a visual analysis of the segmentation of the lungs in the ventilation and perfusion images with percentages. Lower and higher values result in a segmentation that does not represent correctly the lung volume. The optimal segmentation thresholds obtained after the grid search are shown in *Table 2*.

	Left Lung	Right Lung
Ventilation	15%	21%
Perfusion	21%	18%

Table 2:	Optimal	segmentation	thresholds
----------	---------	--------------	------------

In *Table 3*, the reference volume values are shown. These correspond to the segmentation of the images of the reference group using the pairs of segmentation thresholds shown in the previous table.

	Left Lung	Right Lung
Mean (V _{V-P, ref})	328.82 cm ³	816.04 cm ³
Min (V _{V-P, ref})	119.01 cm ³	466.84 cm ³

Table 3:	Reference	volume	values
----------	-----------	--------	--------

In *Figure 2* and *Figure 3*, an example of the segmented SPECT ventilation and perfusion images is shown. These correspond to a 58 years old woman who presents normal lung function. Both images show relative homogeneous uptake patterns. The complete lung volume was segmented in both images and visually they are similar. This results in low V_{V-P} values that are used to represent normal lung function.



Figure 2: Segmented SPECT ventilation image of a subject of the reference group.



Figure 3: Segmented SPECT perfusion image of a subject of the reference group.

3.2. Application in pathological cases

After obtaining the reference volumes, these are applied to the conditions that are described in the previous chapter (see *Table 4*). The absolute value of V_{V-P} is used as the conditions are applied to both pathological groups. To determine if the case is a potential CTEPH or respiratory pathology, the sign of V_{V-P} is first evaluated.

Diagnosis	Left Lung	Right Lung
Positive	$ V_{V-P} > 328.82 \text{ cm}^3$	$ V_{V-P} > 816.04 \text{ cm}^3$
Cannot be	$328.82 \text{ cm}^3 > V_{V-P} >$	$816.04 \text{ cm}^3 > V_{V-P} >$
ruled out	119.01 cm ³	466.84 cm ³
Negative	$ V_{V-P} < 119.01 \text{ cm}^3$	$ V_{V-P} < 466.84 \text{ cm}^3$

Table 4: Quantitative diagnostic scale

The optimal segmentation thresholds are used to obtain the values of V_{V-P} for each patient of groups two and three, that is, patients that present discordant defects in the images. With these values, the diagnosis is determined by the algorithm for each lung separately based on the conditions defined in *Table 4*. An example of a 55 years old woman diagnosed with CTEPH and presenting defects in the SPECT perfusion image is shown in *Figure 4*. Regions of hypoperfusion can be identified in the perfusion image. Due to the lower uptake, these regions are not segmented by the algorithm as the voxel values are beneath the segmentation threshold.



Figure 4: Patient of the CTEPH group showing a normal ventilation image (left) and CTEPH-typical defects (arrows) in the perfusion image (right).

The results of the classification of the pathological cases is shown in *Table 5*. Overall, a sensitivity of 63.64% and an FNR of 36.36% are obtained.

	CTEPH	Respiratory pathology	Both groups
Sensitivity	0.67	0.6	0.64
FNR	0.33	0.4	0.36

Table 5: Classification results

Analysing the results separately, it can be observed that the algorithm performs slightly better in the CTEPH group. In this case, the sensitivity is 66.67% (8/12). Out of the 8 cases that are classified correctly, 2 yield a "Cannot be ruled out" result. This represents a 16.67% of the cases. As is mentioned in section 2, this result does not imply that patients do not suffer from CTEPH, but the defects present do not affect the total volume of pulmonary perfusion enough, in order to establish a reliable diagnosis. In these cases, patients require a visual analysis of the images to confirm or rule out the diagnosis. It is noteworthy that only 1 of the patients classified as positive with certainty is a woman. This can be explained by the fact that the reference values are more representative of the female lung anatomy due to the demographics of that group (see Table 1). The reference volumes and thresholds tend to favour a positive diagnosis in men due to the anatomical differences between the lungs of both genders (male lungs are slightly larger than female lungs) [7]. Finally, 4 of the 12 patients with a positive CTEPH diagnosis are falsely classified resulting in an FNR of 33.33%.

On the other hand, 60% (6/10) of the cases that are diagnosed at the hospital with a respiratory pathology are also correctly classified by our algorithm. In this case, a positive diagnosis cannot be ruled out in 1 case by the algorithm. Out of the 6 correctly classified cases, 4 are women and 2 are men. It is important to note that the group only comprised 2 men. The same explanation of the demographics of the correctly classified cases as in the case of the CTEPH patients applies to this group. Regarding the false negative cases, 2 are classified as "Cannot rule out CTEPH". This indicates that the volume obtained from the perfusion image is larger than the ventilated volume and not the other way around as would be expected in cases of a respiratory pathology. Both cases were diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease.

Future works include a revision of the cases included in the reference group. Firstly, the database could be expanded with more cases to increase the accuracy of the reference values. Moreover, the reference group is principally composed of women (8/10). This leads to reference values that are more representative of the female gender. Therefore, an improvement would be to divide the reference group into two, one of women and another one of men. This could further improve the accuracy of the reference values and result in them being more representative of each gender. Furthermore, due to the limited availability of SPECT ventilation and perfusion images of subjects with normal lung function, patients with concordant defects in both images are included in the reference group. However, a healthy control group could be formed with cases that present normal lung function.

Despite the limitations in terms of the reduced number of patients, the algorithm is able to diagnose CTEPH correctly in two thirds of the patients. Moreover, it shows good capacity to differentiate CTEPH from respiratory pathologies.

4. Conclusions

CTEPH is a severe variant of pulmonary hypertension and caused by the chronic occlusion of the pulmonary arteries by organised blood clots. It is currently diagnosed by the visual inspection of SPECT ventilation and perfusion images. An algorithm is developed to diagnose patients who present CTEPH or a respiratory pathology. The algorithm is based on the processing of SPECT ventilation and perfusion images extracting the respective volumes. The difference between the volumes of ventilation and perfusion was defined as the quantitative metric to determine the diagnosis. This diagnosis was performed using reference values obtained from a group of patients who present normal lung function or concordant volumes in both images. The results show that the quantitative analysis of SPECT ventilation and perfusion images in patients with CTEPH could complement the visual analysis performed in the clinical practice.

Acknowledgements

This work was supported partly by an FPU Fellowship (Beca de Formación de Profesorado Universitario) from the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (FPU16/06487).

References

- Hoeper MM *et al.* Definitions and Diagnosis of Pulmonary Hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, vol 62, no 25, 2013, pp D42–D50, (ISSN: 07351097).
- [2] D'Alonzo GE *et al.* Survival in Patients with Primary Pulmonary Hypertension. *Annals of Internal Medicine*, vol 115, no 5, 1991, p 343, (ISSN: 0003-4819).
- [3] Bajc M et al. EANM guidelines for ventilation/perfusion scintigraphy. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, vol 36, no 9, 2009, pp 1528–1538, (ISSN: 1619-7070).
- [4] Gall H et al. An epidemiological analysis of the burden of chronic thromboembolic pulmonary hypertension in the USA, Europe and Japan. European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society, vol 26, no 143, 2017, p 160121, (ISSN: 1600-0617).
- [5] Galiè N et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. European Heart Journal, vol 37, no 1, 2016, pp 67–119, (ISSN: 0195-668X).
- [6] Tsai J-Z et al. Left–Right Asymmetry in Spectral Characteristics of Lung Sounds Detected Using a Dual-Channel Auscultation System in Healthy Young Adults. Sensors, vol 17, no 6, 2017, p 1323, (ISSN: 1424-8220).
- [7] LoMauro A, Aliverti A. Sex differences in respiratory function. *Breathe (Sheffield, England)*, vol 14, no 2, 2018, pp 131–140, (ISSN: 1810-6838).

Red Blood Cell Segmentation for Malaria Detection Using Deep Learning

M. Delgado-Ortet¹, S. Alférez², Á. Molina³, A. Merino³, J. Rodellar².

¹ Department of Biomedicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain, mdelgaor8@alumnes.ub.edu

² Department of Mathematics, Polytechnic University of Catalonia, Barcelona, Spain, {santiago.alferez, jose.rodellar}@upc.edu

² Biomedic Diagnosis Center, Hospital Clínic of Barcelona, University of Barcelona, {amolina, amerino}@clinic.cat

Abstract

Malaria is an epidemic health disease that demands, for proper intervention, a rapid accurate diagnosis. Gold standard diagnosis remains the visual examination of peripheral blood stained slides by pathologists; a subjective, error-prone and timeconsuming procedure.

This work presents a system for red blood cell segmentation in May Grünwald-Giemsa stained blood slides and later classification of erythrocytes into malaria infected and noninfected using Deep Learning. For so, red blood cells from whole slide images were segmented, cropped, masked and classified. A Semantic Segmentation Network and a Convolutional Neural Network were designed, trained, validated and tested for red blood cell segmentation and malaria classification, respectively. Morphological filters and image analysis techniques were used to automate the cropping and masking of the cells.

The segmentation achieved an accuracy of 93.72% over the test set and the specificity of the classification of malaria infected red blood cells was 87.04%. The resulting clinical decision support system is easy to use and may be useful for pathologists to ease the final confirmation of a malaria diagnosis.

1. Introduction

Malaria is a hematological infectious vector-borne disease. Five *Plasmodium* species are known to infect human beings regularly: *P. vivax, P. falciparum, P. malariae, P. ovale*, and *P. knowlesi*. Such parasites are transmitted to the human through the bites of infected female *Anopheles* mosquitoes, called "malaria vectors"; present in tropical and subtropical regions [1].

Transmission occurs in more than 100 countries in Africa, Asia, Oceania and the Middle East, and in some Caribbean islands and Turkey [2]. Therefore, it is an imported disease of rare diagnosis in Europe –between 120 and 180 cases are registered annually in Spain [2]– but it is a medical emergency. *Plasmodium falciparum* –prevalent in sub-Saharian Africa– and *P. vivax* –prevalent in Southeast Asia and Latin America– are the predominant species worldwide with an estimated incidence of 207 million and 8.5 million cases respectively in 2016; causing 445,000 deaths [3].

Plasmodium organisms are unicellular, have ring shape and found inside the red blood cell (RBC) cytoplasm.

A rapid, accurate diagnosis is necessary for proper intervention [4-5] since confirming the presence of parasites in all malaria cases ensures species-specific antimalarial treatment – reducing the mortality rate [4]– and points to other illnesses in negative cases [1]. The gold standard for malaria diagnosis remains the microscopic analysis of stained blood films. Therefore, pathologists generally visually examine peripheral blood (PB) stained slides for its diagnosis. Nevertheless, this kind of visual inspection is subjective, error-prone and time-consuming.

The motivation of this project arises from the need for achieving a more objective, reliable and quicker diagnosis of the malaria infection. Moreover, a computer-assisted digital pathology system (DPS) for malaria screening or diagnosis will add value to the existing gold standard in terms of rapidity and efficiency, specially, where trained personnel are not available [4] The ultimate goal of this work is to develop a complete software methodology to automatically detect –i.e. determine the presence of– *Plasmodium* genus parasites in stained PB digital images by the usage of digital image processing together with deep learning.

2. Materials

Three different datasets were used throughout the whole process: (A) a dataset of 186 healthy PB smears whole slide images, (B) a dataset of 356 malaria infected PB smears whole slide images and (C) a dataset of 27,558 images of masked and cropped individual erythrocytes (50% healthy, 50% *Plasmodium* parasitized).

All images from the datasets were obtained from PB smears stained with May Grünwald-Giemsa (MGG). Datasets A and B were compiled during the daily work in the Core Laboratory at the Hospital Clínic of Barcelona and the images (RGB, 2,400 x 1,800 pixels) were acquired using a microscope with 1,000x magnification (Olympus BX43) and a digital camera (Olympus DP73). On the other hand, dataset C was downloaded from the online repository *Malaria* dataset

(https://ceb.nlm.nih.gov/repositories/malaria-datasets/), made available by researchers at the Lister Hill National Center for Biomedical Communications (LHNCBC). Images from this last dataset were all of different dimensions, ranging from 55 x 40 to 364 x 340 pixels.

Dataset A was manually semantic segmented as each pixel had to be labelled into two classes: "Red Blood Cell" if they were part of an erythrocyte, "other" if they were not. The process was semi-automated by the programming of an algorithm that used gaussian filtering, thresholding on the green channel and mathematical morphology filters. Finally, patches of 361×361 pixels were automatically cropped by a binary image analysis-based algorithm; i.e. by the analysis of the labelled image. A total of 5,911 patches were generated: 3,099 had an erythrocyte in the center while 2,812 did not.

Dataset B could be automatically pixel labelled using the Semantic Segmentation Network (SSN) from phase I of the resulting clinical decision support system (see *3.1 RBCs segmentation*) and its RBCs were cropped to 181 x 181-pixels by the same algorithm as dataset A. Additionally, a third automation algorithm was programmed to mask the cropped erythrocytes in order to resemble dataset C. The resulting patches were manually classified as infected (763) or non-infected (3,116).

Regarding the network architectures, they were designed, trained, validated and tested using MATLAB® Deep Learning ToolboxTM and a Nvidia Titan XP GPU.

3. Methodology

The aim of this work is to develop a Clinical Decision Support System (CDSS) for malaria detection. The resulting CDSS takes as input digital images of PB blood smears and gives as output the erythrocytes which are potentially parasitized by *Plasmodium*. To do so, the input images are analyzed through three phases (I, II and III), summarized in Figure 1.



Figure 1. Sketch of the proposed solution pipeline.

Phases I and III involved the design, training, validation and test of two Neural Networks (NNs). Phase II consisted in devising an algorithm based on morphological filters and binary image analysis.

3.1. **RBCs segmentation**

In this first phase, by the usage of a Semantic Segmentation Network (SSN), each of the pixels of an input PB image is labeled into two classes, regarding whether it belongs to an erythrocyte or not.

Design

SSNs are Fully Connected Networks (FCNs) with a very specific architecture of two symmetrical blocks [6]: (1) a decoding block to down-sample the image in order to capture semantic/contextual information and (2) an encoding block to resize the output image to the input dimensions. Finally, a third block for the classification of the pixels is added in series.

The resulting SSN for RBC segmentation had seven layers and a total of 151,171 parameters (or weights) to tune (Figure 2).



Figure 2. Design of the SSN for RBCs segmentation for RGB images of yxy spatial dimensions as input. At the bottom of each layer, the dimensions of its outputs.

Training, validation and test

Five different patients' samples accounted for the total of images from dataset A. The whole slide images from one of these patients were kept for testing and the cropped patches from the rest were split 80% for training and 20% for validation and resized to 128 x 128 pixels for the training.

During every training iteration, the goal is to minimize the loss function that measures how good the classifier is. Except in very special cases, there is no method guaranteed to find the global minimizer. Instead, local optimization starting from a random point is performed. For this network, the iterative solver Stochastic Gradient Descent with Momentum (SGDM) [7].

As all slide images from dataset A were manually semantic segmented, i.e. ground truth labels were available, the network was tested by making it segment whole slide images corresponding to the fifth patient and comparing results to the ground truth labels. The metrics to evaluate the performance were single global accuracy and the Jaccard similarity coefficient [8].

3.2. RBCs cropping and masking

This second phase applied two algorithms to the semantic segmented images from the phase above: a first one to crop the erythrocytes from it and a second one to mask them. Firstly, to automatically locate the centers of the RBCs and crop them, the clusters labelled as RBCs in the binary labels images (1 for erythrocyte, 0 for other) were individually analyzed and selected as potential individual erythrocytes accounting their area (<35,000 pixels²) and

eccentricity (<0.65). The masking process was an elementby-element product of the cropped binary labels images and the patch from the original images. Binary labels images were preprocessed in the algorithm to keep only the central erythrocyte of the cropped patch (Figure 1).

3.3. Binary classification of RBCs (malaria infected/non-infected)

Design

The Convolutional Neural Network (CNN) was, as the one for RBCs segmentation, a FCN. However, it was for classification purposes instead of segmentation; therefore, the decoding block was not required. Figure 3 shows the final classification CNN, which accepts 181 x 181-pixel RGB images as an input and gives as an output two numbers corresponding to the probability of the input patch of belonging to each of the classes (infected/non-infected). A total of 30,758 weights were trained.



Figure 3. Design of the CNN for the binary classification of RBCs regarding malaria infection. At the bottom of each layer, the dimensions of its outputs.

Training, validation and test

A total of 24,000 patches (12,000 of each class) from dataset C were taken to configure the training set and the remaining 3,558 were the validation set. They were all resized to 181 x 181-pixels. During the training, SGDM was used as the iterative solver to minimize the loss function [7].

The 3,052 resulting cropped and masked RBCs from dataset B were used as the test set.

4. Results

4.1. **RBCs segmentation**

Training the SSN from Figure 1 with RGB patches of 128 x 128-pixels both (1) with and (2) without an erythrocyte in the center, gave an overall performance that is summarized in the confusion matrix from Figure 4.



Figure 4. Confusion matrix of the SSN over the test set.

As a first classification attempt, the SSN was trained using 64 x 64-pixels erythrocyte centered patches. However, given the class unbalance –as there were many more pixels belonging to the "erythrocyte" class– a clear overestimation of the number of RBCs pixels in the test set

occurred as 96.58% of the non-erythrocyte pixels were wrongly predicted by the SSN. Therefore, it was devised to create non-erythrocyte centered patches to compensate the pixels amount of each class in the training set, giving a much more satisfactory segmentation (Figure 5).



Figure 5. (a) Ground truth segmentation, (b) SNN prediction when trained with erythrocyte centered patches only and (c) trained with centered and non-centered patches. In blue, the pixels labelled as "erythrocyte".

Moreover, a higher accuracy was achieved when the network was trained using the largest patches (128 x 128 pixels): the larger the patches, the more features the SSN is able to detect and the better classification it provides.

Taking a deeper insight into the selected SSN, it was observed that 15 out of the 17 (88%) test images were segmented with a resulting Jaccard coefficient [8] larger than 0.85 with respect to the ground truth segmentation.

4.2. RBCs cropping and masking

Most of the patches looked as desired. However, some problematic patches were repeatedly recorded. Figure 6 records from the most to the least recurrent: (a) masked RBCs with pointy appearance, (b) masked RBCs fused with platelets, (c) patches with small remains of undefined shape, (d) patches with a platelet as the centered object instead of a RBC and (e) masked white blood cells.



Figure 6. The cropping and masking of the erythrocytes gave some recurring problems, summed up in these types.

4.3. Binary classification of RBCs (malaria infected/non-infected)

The final accuracy achieved for the validation set was 95.00% and, for the test set, 75.39%. However, given the class proportionality of the test set (1:4), the accuracy was not a good indicator of the classifier. For this classifier, the sensitivity was 17.90% and the specificity, 87.04%.

The softmax layer (Figure 3) gave out two complementary probabilities on how likely was for a patch to belong to each class (Figure 7). While 87.04% of the non-parasitized patches got less than 0.5 as probability to be infected (i.e., they were well classified as TN), only 17.84% of the infected patches were well classified as they got a probability equal or higher than 0.5.

It was thought that diminishing the probability threshold (τ) between the two classes to a value of 0.3 (Figure 7) could help to increase the number of TPs and, even though that would imply a diminishing of the specificity because of the increase of FPs, it would counterbalance this effect

by a considerable increase of the sensitivity. Therefore, the two cut-offs classifier performances were evaluated and compared in terms of accuracy, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) (Table 1).



Figure 7. Predicted probability of infected for each image of the test set. Dashed lines represent different threshold cut-offs and the color of the data indicates its true class.

	$\tau = 0.5$	$\tau = 0.3$	Change
Accuracy	75.39%	74.25%	-1.14%
Sensitivity	17.90%	22.18%	+4.28%
Specificity	87.04%	84.79%	-2.25%
PPV	22.85%	22.80%	-0.05%
NPV	83.96%	84.33%	+0.37%

Table 1. Binary classification CNN performance measures.

As expected, the specificity diminished and the sensitivity increased with $\tau = 0.3$. However, the increase in sensitivity (+4.28%) was not enough to justify the change of cut-off as the performance of the classifier was very similar regardless of the threshold.

5. Discussion and conclusions

This work presents a novel pipeline as a digital pathology system (DPS) for malaria diagnosis. No related previous work has first segmented the RBCs using a semantic segmentation network (SSN) and achieving such an outstanding accuracy of 93.72%. This is a need for digital pathology in blood smears as in [5], Loddo et al. state the need for good cellular segmentation techniques. In spite of the fact that there is still room for improvement, specially when it comes to the recurrent mistakes of segmenting platelets as RBCs (which can be solved by adding a third class for the SSN to recognize or more data for training), this trained SSN provides a valuable tool for many other applications, as it could ease the obtention of simple descriptors for erythrocytes such as kurtosis, mean radius or skewness. Furthermore, the training of this network (with erythrocyte centered and non-centered patches) was an ingenious procedure that made the usage of data augmentation techniques unnecessary.

Ideally, the CNN for binary classification should be improved in two directions:

- 1. To classify a whole slide image instead of individual erythrocytes –therefore avoiding shortcomings from the second step and speeding up the diagnosis.
- 2. To reach a performance comparable to the gold standard.

In terms of the second point, the specificity and the NPV acquired are similar (90.40% and 92.20% for the gold standard, respectively). However, the sensitivity and the PPV are still far from the gold standard ones: 74.30% and 69.80% [9].

The performance in this study was affected by the fact that the training and validation sets were of different origin than the test one, which may explain the great difference between the accuracy on the validation set (95.00%) and the test set (75.39%). This could have been avoided by mixing dataset C and patches from dataset B to train and validate the SSN and by generating a more balanced test set in terms of classes recurrence. Finally, note that this designed CNN architecture may also be trained to detect other diseases, if enough data is available to train it.

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Sala-Llonch and Dr. Navajas for their helpful reading of the manuscript.

References

- Ashley, E.A., Phyo A.P., & Woodrow, C.J. (2018).
 Malaria. Lancet, 391, 1608-21. Retrieved from http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30324-6.
- [2] Merino, A. (2005). *Manual de citología de sangre periférica*. Madrid, Spain: Editorial Acción Médica.
- [3] World Health Organization (WHO). (2017). World malaria report 2017. Retrieved from http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/report/en/.
- [4] Das, D.K., Mukherjee, R, & Chakraborty, C. (2015). Computational microscopic imaging for malaria parasite detection: a systematic review. Journal of microscopy, 260(1), 1-19. Retrieved from https://doi.org/10.1111/jmi.12270.
- [5] Loddo, A., Di Ruberto, C., & Kocher, M. (2018). Recent Advances of Malaria Parasites Detection Systems Based on Mathematical Morphology. Sensors, 18 (2), 513. Retrieved from https://doi.org/10.3390/s18020513.
- [6] Dwivedi, P. (2019). Semantic Segmentation: Popular Architectures. Retrieved from https://towardsdatascience.com/semantic-segmentationpopular- architectures-dff0a75f39d0.
- [7] Rumelhart,D.E., Hinton, G.E., & Williams, R.J. (1986) Learning internal representations by error propagation. In D.E. Rumelhart & J.L. McClelland (eds), *Parallel distributed processing, vol. 1* (pp. 318-362). Cambrdige, MA: MIT Press.
- [8] Jaccard, P. (1901). Distribution de la flore alpine dans le bassin des Dranses et dans quelques régions voisines. *Bull Soc Vaudoise Sci Nat*, 37, 241-272.
- [9] Abdalla, Z. A., Rahma, N. A., Hassan, E. E.,, & Adam, I. (2019). The diagnostic performance of rapid diagnostic tests and microscopy for malaria diagnosis in eastern Sudan using a nested polymerase chain reaction assay as a reference standard. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Retrieved from https://academic.oup.com/trstmh/advance-articleabstract/doi/10.1093/trstmh/trz069/5537156?redirectedFro m=fulltext.

Multiprocesado automático de datos de espectroscopía por resonancia magnética [UltraSP]

D. Pedroche Álvarez¹, M.L. Soto Montenegro^{2,3}, M. Desco Menéndez^{2,3,4}, D. Rodríguez Pérez¹, C. Santa-Marta Pastrana¹

¹Dpto. de Física Matemática y de Fluidos. UNED, pedrocheorama@gmail.com, {daniel,cris}@dfmf.uned.es

²Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, {marisa,desco}@hggm.es

³CIBER de Salud Mental (CIBERSAM)

⁴Department of Bioengineering and Aerospace Engineering, Universidad Carlos III de Madrid

Resumen

La cuantificación de espectros por resonancia magnética (MRS) depende principalmente de la calidad de los datos adquiridos, de la herramienta de post-proceso utilizada y del criterio del operador. Los dos primeros factores normalmente llegan impuestos. El objetivo de este trabajo es automatizar el procesado para eliminar el sesgo del operador, además de reducir el tiempo de trabajo. Con esta técnica de multiproceso, además, se analiza cada espectro con diferentes juegos de parámetros de manera que cada pico del espectro se trata de manera individual y su cuantificación se realiza con los parámetros más apropiados para sus características particulares.

Esta técnica de multiproceso se ha compilado como una solución llamada UltraSP, que hace uso de otras herramientas multiplataforma y de libre distribución, entre ellas el software de post-proceso de datos de espectroscopia jMRUI.

En este trabajo se han utilizado 101 señales FID (Free Induction Decay) de cerebro de ratas adquiridas in vivo y se han evaluado 14 métodos de procesamiento que han permitido la puesta a punto de la técnica. Se describen, además de la herramienta UltraSP, los juegos de parámetros más apropiados para analizar cada metabolito para los espectros utilizados. La reducción de tiempo de trabajo respecto a la labor manual es mayor de 1/100.

1. Introducción

La espectroscopia por resonancia magnética es una técnica de caracterización molecular no invasiva muy utilizada en diversos campos de investigación. El post-proceso de los datos y su cuantificación se hacen habitualmente de manera manual, lo que supone tanto una gran inversión de tiempo como la introducción del sesgo debido al operador. En este trabajo se ha implementado una herramienta de postprocesado automático de espectros sin supervisión, llamada UltraSP, que minimiza el sesgo que introduce el operador, además de optimizar el tiempo de procesado. Esto se ha herramientas logrado integrando informáticas multiplataforma y de libre distribución, que conforman la solución autocontenida de procesamiento UltraSP.

UltraSP procesa tanto en el dominio del tiempo (Free Induction Decay, FID) como en el dominio de la frecuencia (espectro, obtenido tras la transformada de Fourier de la FID) que, normalmente, llevaría a cabo manualmente un operador. A continuación, se detallan los análisis empleados en este trabajo [1, 2]

Dominio del tiempo.

Relleno con ceros *(zero padding)*: la longitud de la FID original se puede alargar añadiendo ceros al final, de esta forma se amplía el tiempo de adquisición de manera sintética en la zona en la que se espera una relajación total del tejido en estudio.

Supresión de agua residual [3]: la señal se puede descomponer en una suma de funciones sinusoidales amortiguadas, eliminando la que correspondería al agua. En este caso se utiliza un algoritmo tipo HSVD (Hankel Singular Value Decomposition) [4].

Dominio de la frecuencia.

Establecimiento de una frecuencia de referencia: para seguir el criterio más utilizado en la literatura [1], el pico residual del agua se sitúa en 4,7 ppm (partes por millón)

Corrección de fase: Este método se puede aplicar como corrección de orden cero y corrección de primer orden.

Suavizado: se filtra el espectro con una función gaussiana o lorentziana de un cierto ancho de banda (definido en Hz). Suaviza la señal y elimina el ruido.

Algoritmo de cuantificación.

Una vez la señal está pre-procesada, se usan diferentes algoritmos para cuantificar los picos de interés. En este trabajo se ha utilizado el método HLSVD (Hankel Lanczos Singular Value Decomposition) [5], un método que no requiere intervención directa por parte del usuario. HLSVD se basa en un espacio de estados donde la información se organiza en una matriz de Hankel. Posteriormente se calculan los autovalores de dicha matriz ya que estos son los estimadores de los polos de la señal. Como cota inferior de la varianza de estos estimadores se utiliza la cota inferior de Cramér-Rao (CRLB) [6].

Identificación de los picos.

En espectroscopia cerebral, los principales metabolitos que se pueden encontrar son los siguientes según [7, 8]:

N-acetilaspartato (NAA): Su señal se sitúa en 2,03 ppm. Es un marcador neuronal, por lo que está presente siempre que hay neuronas viables. Salvo en el caso de pérdida neuronal severa, siempre aparece con gran amplitud en los espectros.

Colina total (GPC/PC/Cho): En 3,24 ppm, aparece como uno solo pico debido a la resolución espectral. Es un marcador

ISBN 978-84-09-16707-4 Actas del XXXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica, pages 119–122 Santander, España, 27 al 29 de noviembre, 2019 indicativo de la integridad de las membranas plasmáticas y se encuentra asociado a proliferación celular.

Creatina (Cr/PCr): En 3,05 ppm y en 4,00 ppm, ambos corresponden a dos metabolitos, creatina y fosfocreatina que no pueden ser resueltos. Son indicadores de la reserva energética neuronal disponible en el tejido cerebral. Su concentración es bastante estable, por lo que el pico en 3,05 ppm se suele utilizar como referencia para normalizar la amplitud del resto de picos del espectro.

Ácido láctico (Lac): Aparece en 1,31 ppm, normalmente en muy bajas concentraciones. Se asocia a hipoxia y muerte celular.

Myo-Inositol (mI): En 3,67 ppm se hace visible a tiempos de eco cortos. Es indicativo de la integridad de las células gliales. Aumenta significativamente en los tumores gliales de bajo grado.

Glutamato/Glutamina (Gln/Glu): se encuentran en 3,7 ppm. Se trata de un neurotransmisor excitatorio. Sus concentraciones pueden verse alteradas en cuadros depresivos, cáncer, esclerosis múltiple, etc.

2. Material y métodos

Se han empleado 101 espectros de cerebro de rata adquiridos *in vivo* en modo *single-voxel* en una máquina Bruker Biospec 70/20 (Bruker, Massachusetts, USA) de 7 T. Se utilizó una secuencia PRESS para núcleo de 1H con supresión de agua (VAPOR), 2.048 puntos, TE/TR = 16,5/2.500 ms, 128 repeticiones y vóxeles isotrópicos de 1,5 mm³ localizados en hipocampo y en corteza prefrontal.

2.1. Flujo de trabajo

El flujo de trabajo con UltraSP se ha dividido en dos partes:

En primer lugar, se ha procesado cada FID en jMRUI (Version Number: 5.2, <u>http://www.jMRUI.eu/</u>), haciendo una búsqueda automática de 15 picos y se han volcado los resultados obtenidos en un archivo de texto. El número de variaciones de parámetros para realizar el estudio se ha establecido en 14, esto quiere decir que cada una de las 101 FID se ha procesado con 14 macros distintas. Cada vez que se procesa una misma FID con una macro diferente se puede obtener un número diferente de picos. El fin último es encontrar el parámetro óptimo para cada metabolito de manera automática. Las macros se han dividido en 4 categorías principales:

- Relleno con ceros: 1024 y 2048 ceros
- Supresión del agua residual: desde 20% a 70%.
- Filtrado lorentziano: 2Hz, 4Hz, 6Hz, 8Hz
- Corrección automática de fase: sí o no.

En segundo lugar, los resultados obtenidos se insertan en una base de datos OracleXE, de distribución gratuita, (https://www.oracle.com/es/database/technologies/appdev/x e.html) a través de la herramienta ETL (Extract, Transform and Load) Pentaho Data Integrator 8.2, (https://community.hitachivantara.com/docs/DOC-1009931-downloads) en su versión Community de código

libre. Los resultados obtenidos se han cargado también en 120

una hoja de cálculo Microsoft Excel 2016 (fig.1). Todo el software utilizado es compatible con los sistemas operativos habituales (Microsoft Windows, MacOS y GNULinux).



Fig 1. Esquema general del flujo de trabajo proporcionado por UltraSP.

2.2. Análisis y cuantificación

En el análisis posterior se han llevado a cabo los siguientes pasos:

<u>Ajuste de ppm del agua:</u> el pico residual del agua está inicialmente en 0 ppm, se aplica una corrección +4,70 ppm.

<u>Descarte de picos con 5 < ppm < 0</u>: los picos de interés se sitúan entre 0,46 ppm y 4,03 ppm, se descartan picos por debajo de 0 y por encima de 5 ppm.

<u>Identificación de metabolitos:</u> se establece la correspondencia entre posición del pico en el espectro (ppm) y metabolito en función de una tabla predefinida en [8]. Se comprueba si el valor estimado del centro de cada pico detectado está contenido en algún intervalo definido como (ppm \pm tolerancia) de la tabla de referencia.

<u>Cálculo de amplitud relativa con respecto a Cr:</u> se calcula la amplitud relativa de cada uno de los metabolitos encontrados dividiendo su amplitud por la del pico de Cr detectado, utilizando así la normalización habitual en la literatura.

<u>Grupo de control</u>: se considera como grupo de control el conjunto de picos encontrado en cada espectro sin haber realizado ninguna operación de pre-procesamiento, únicamente la cuantificación HLSVD con el mismo criterio de CRLB. Se consideran dos casos: el CRLB se acota a un valor máximo de 10 o se elimina la restricción de valor máximo.

2.3. Criterios de calidad implementados

En esta solución de procesamiento automático los criterios de calidad empleados sobre metabolitos y FIDs son completamente parametrizables, pudiendo ser utilizados los que se consideren más oportunos. En el presente trabajo se han utilizado las siguientes condiciones de aceptación:

- 1. Los metabolitos aceptados de cada FID deben tener un valor de anchura menor que ¿la mitad de? su amplitud total.
- 2. Las FIDs aceptadas serán aquellas que contengan los metabolitos NAA y Cr cumpliendo ambos, por tanto, la condición 1.

3. Resultados

A continuación, se muestra el análisis del impacto de cada uno de los parámetros de pre-proceso en los resultados, valorado como el número de picos encontrado en cada caso.

3.1. Relleno con ceros

Las FIDs se rellenan con 1024 ó 2048 ceros. El número de metabolitos desciende o se mantiene para valores de CRLB ≤ 10 (tabla 1). Sin esta restricción (CRLB $< \infty$) el número de metabolitos encontrado no varía respecto al control.

METABOLITO	CONTROL	1024	2048
Cr/PCr	23	12	10
Cr/PCr +	4	2	3
Gln	1	1	1
Gln/Glu	3	3	3
Glu	2	2	2
Lac	3	3	3
Lipid	6	6	6
NAA	25	12	21
Tau	7	7	7

Tabla 1. Conteo de metabolitos para distintos valores de relleno de ceros, CRLB<10 (FIDs analizadas 25, FIDs descartadas 76)

3.2. Supresión del agua residual



Fig. 2. Número total de picos respecto al porcentaje del filtrado del agua, CRLB<10. FIDs analizadas 25, FIDs descartadas 76





Se ejecutan filtrados al 20%, 30%, 40%, 50%, 60% y 70% con CRLB<10 (fig.2) y con CRLB $\leq \infty$ (fig. 3).

3.3. Suavizado y corrección de fase

Se realizan suavizados lorentzianos a 2Hz, 4Hz, 6Hz y 8Hz con CRLB<10 (tabla 2). La detección de metabolitos cae abruptamente conforme aplicamos este procedimiento.

Metabolito	CONTROL	2 Hz	4 Hz	6 Hz	8 Hz
Cr/PCr	23	20	16	6	0
Cr/PCr +	4	0	0	0	0
Gln	1	0	0	0	0
Gln/Glu	3	0	0	0	0
Glu	2	0	0	0	0
Lac	3	0	0	0	0
Lipid	6	0	0	0	0
NAA	25	18	14	7	0
Tau	7	0	0	0	0

 Tabla 2.
 Conteo de metabolitos para distintos valores de suavizado (CRLB<10).</th>
 FIDs analizadas 25, FIDs descartadas 76

Sin aplicar la restricción en el CRLB los resultados encontrados muestran nuevamente una caída en el número de picos detectados, pero no es tan llamativa como la anterior (tabla 3).

Metabolito	CONTROL	2 Hz	4 Hz	6 Hz	8 Hz
Cr/PCr	59	50	42	26	12
Cr/PCr +	6	2	3	2	3
Gln	1	1	0	0	0
Gln/Glu	11	3	2	2	0
Glu	5	2	0	1	0
Lac	7	0	0	0	0
Lipid	15	1	2	0	0
NAA	59	50	40	24	10
Tau	11	3	1	1	1

Tabla 3. Conteo de metabolitos para distintos valores de suavizado (CRLB ≤ ∞). FIDs analizadas 59, FIDs descartadas 42.

Finalmente se aplica corrección de fase de orden 0 para cada valor de suavizado con CRLB<10 (fig. 4).



Fig.4. Número total de picos respecto al porcentaje del filtrado del agua $(CRLB < \infty)$. FIDs analizadas 59, FIDs descartadas 42, donde. NO-F significa sin corrección de fase y FS con corrección de fase.

La corrección de fase automática mejora la detección de NAA y de Cr/PCr con suavizados de 4 Hz y 8 Hz.

4. Discusión

El *gold standard* en procesado de datos de MRS es el paquete LCModel, que cuantifica los metabolitos siguiendo métodos estadísticos de manera completamente automática [9]. Sin embargo, su uso se limita a unos pocos centros de investigación, dado el alto precio de su licencia. Hasta donde llega nuestro conocimiento, no existe ningún paquete de software de libre distribución que ofrezca un procesado automático.

El método propuesto [UltraSP], además de ser automático, tiene la gran ventaja de utilizar multiprocesado. Así, cada FID se post-procesa múltiples veces, variando cada vez el valor de los ajustes utilizados. Después de cada procesado se extraen sólo los picos que son estadísticamente viables. Los picos difíciles de encontrar de manera manual con un único juego de parámetros aplicado, pueden ser visibles en alguno de los resultados del multiproceso.

La validación de los resultados se ha hecho respecto al grupo control (sin aplicar parámetros de pre-proceso) y no frente a un procesado manual, dado que el tiempo necesario para replicar todo el estudio estaba fuera de nuestro alcance. Se hará una validación posterior frente a un único procesado manual de las 101 FIDs. La gran cantidad de ficheros descartados en este estudio se debe a la baja SNR de los datos adquiridos, por lo que se encuentran notables diferencias en el número de picos encontrados con y sin aplicar la restricción del estimador CRLB.

El método estadístico que se emplea otorga una justificación objetiva para la determinación del número de metabolitos y de su concentración. Así mismo, la operativa del software está determinada por las macros utilizadas, por lo que la replicabilidad por otros grupos de investigación está garantizada.

5. Conclusiones

Se ha desarrollado un nuevo método de cuantificación de espectros por resonancia en formato multiproceso denominado UltraSP, donde las FID se procesan de forma consecutiva con diferentes valores de los parámetros, posibilitando encontrar el protocolo de cuantificación más eficiente posible. Este nuevo método no está documentado en la literatura consultada y se propone como una forma de tratamiento de la información que mantiene la replicabilidad de los resultados y elimina el sesgo introducido por el operador. El tiempo medio de cuantificación de metabolitos también se reduce drásticamente, pudiendo postprocesar cientos de FIDs en minutos, utilizando un software de libre distribución y un ordenador de uso doméstico.

Los resultados del método de multiproceso UltraSP pueden ser de gran utilidad cuando se analicen FIDs de buena calidad, en las que se busquen metabolitos en bajas concentraciones cuyos picos sean difíciles de aislar tanto del ruido de fondo como de otros metabolitos parcialmente superpuestos. En el caso de nuestro estudio, los resultados no son muy concluyentes, debido a la baja calidad de las FIDs disponibles.

Agradecimientos

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Ciencia, innovación y Universidades, Instituto de Salud Carlos III (PI17/01766) cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) "Una manera de hacer Europa"; CIBERSAM; Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas (2017/085); Fundación Alicia Koplowitz; Consejería de Educación e Investigación, Comunidad de Madrid, cofinanciado por el Fondo Social Europeo "El FSE invierte en tu futuro" (PEJD-2018-PRE/BMD-7899, PEJ-2017-TL/BMD-7385) y Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno.

Agradecemos a Guillermo Sánchez Fernández, de la Facultad de Ciencias de la UNED, las fructíferas discusiones a lo largo del desarrollo de este trabajo, así como a Nicolás Lamanna, Diego Romero y Vanessa Gómez del IiSGM, por la generación del modelo animal sin el cual no hubiera sido posible la obtención de las imágenes utilizadas en este estudio.

Referencias

- [1] Totenhagen JW, Yoshimaru ES, Erickson RP, Trouard TP. (1) H magnetic resonance spectroscopy of neurodegeneration in a mouse model of Niemann-Pick type C1 disease. J Magn Reson Imaging. 2013;37(5):1195–1201. DOI:10.1002/jmri.23902
- [2] Stefan, D., Di Cesare, F., Andrasescu, A., Popa, E., Lazariev, A., Vescovo, E., Strbak, O., Williams, S., Starcuk, Z., Cabanas, M., van Ormondt, D., Graveron-Demilly. D. Quantitation of magnetic resonance spectroscopy signals: the jMRUI software package. Measurement Science and Technology 20:104035 (9 pp), 2009. doi: 10.1088/0957-0233/20/10/104035
- [3] Barkhuijsen, H, de Beer, R, van, Ormondt, D. Improved algorithm for noniterative time-domain model fitting to exponentially damped magnetic resonance signals. *Journal of Magnetic Resonance* 73: 553-557, 1987.
- [4] Vanhamme L, Fierro RD, van Huffel S and de Beer R. Fast removal of residual water in proton spectra. J Magn Reson. 1991;132:197–203
- [5] Barkhuijsen, H, de Beer, R, Bovée, W.M.M.J., van, Ormondt, D. Retrieval of frequencies, amplitudes, damping factors, and phases from time-domain signals using a linear least-squares procedure. *Journal of Magnetic Resonance* 61: 465-481, 1985.
- [6] Emil Horia Popa. Algorithms for handling arbitrary lineshape distortions in Magnetic Resonance Spectroscopy and Spectroscopic Imaging. Other. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. English. ffNNT: 2010LYO10123ff. fftel-00716176f.
- [7] In vivo 1 H Magnetic Resonance Spectroscopy Carmen Muñoz-Hernández, M & Garcia-Martin, Maria. Chapter in Methods in Molecular Biology 1718:151-167. 2018. DOI: <u>10.1007/978-1-4939-7531-0 10</u>
- [8] Mandal PK. In vivo proton magnetic resonance spectroscopic signal processing for the absolute quantitation of brain metabolites. Eur J Radiol. 2012;81:653-64.
- [9] Stephen Provencher. Estimation of metabolite concentrations from localized *in vivo* proton NMR spectra. Magn Reson Med 30, 672 (1993).

A functional murine model for the study of visual rehabilitation: neural activity in behaving rats

A. Barriga-Rivera^{1, 2}

¹ Faculty of Engineering and Information Technology, University of Sydney, Sydney, Australia, alejandro.barriga-rivera@sydney.edu.au

Abstract

Pre-clinical assessment of the efficacy of the different visual restoration strategies requires typically the demonstration of evoked neural activity following the re-introduction of visual information. In these lines, this study reports a methodology to conduct electrophysiological evaluations in behaving rats. Thus, recording electrodes were chronically implanted into the superior colliculus, the primary visual cortex and the orbicularis oculi muscle. A pair of stimulating electrodes was also advanced into the optic chiasm to generate an artificial input to the visual system in normally sighted animals. Visual and electrically evoked potentials were successfully demonstrated in two out of three animals. Latencies to the peaks of the neural responses appeared shorter compared to those reported in rats. However, a larger sample along with the implantation of smaller electrodes will be required to show further insights on the effects of the anesthetic agents used in acute experiments.

1. Introduction

Advances in neural technologies have allowed the deaf to recover audition using cochlear implants. With the hope the scientific community has in restoring vision to the blind, many are the therapies and devices able to elicit visual sensations, but few have already reached the bedside. Bionic vision research provides examples of a number of devices that have obtained approval for commercialization [1, 2]. However, all these approaches, both technological and organic, have not yet fully succeeded. For example, biological strategies such as gene therapies or stem cell transplants are facing safety and ethical barriers that are slowing down their progression towards the market [3]. Visual prostheses on the other hand are still limited by the electrochemical barriers of metallic electrodes [4], by the difficulties in replicating the neural code [5], and by the overlapping of the electric fields among other factors [6].

All research strategies in the field of visual restoration share one same question: what will the patient see? Answering this interrogation requires applying a given therapy within a clinical trial and asking the patient to report the visual percepts thus elicited [7]. Nevertheless, most of the research performed prior to undergoing human tests is conducted in an animal model, and aims to answer this and other similar questions related to the efficacy of the therapy under investigation. In this context, the goal of this study is to report a functional murine model that can be used to explore neural responses and behavioral manifestations during the reintroduction of the visual input.

2. Methodology

Three male non-dystrophic Royal College or Surgeon rats (RSC-rdy+p+/Lav) were included in this pilot study, and were scheduled for chronic implantation of stimulating and recording electrodes at the age of 20 weeks. The experiments were approved by the institutional ethics committee of the University Pablo de Olavide and followed the Spanish regulation (RD 53/2013) and the European Directive 2010/EU. All experiments adhered to the ARVO statement for the use of Animals in Ophthalmic and Vision Research. The study was conducted at the animal housing facilities of the University Pablo de Olavide, Seville, Spain.

2.1. Animal preparation

Prior to surgery, anesthesia was induced by introducing the animal within a Perspex chamber filled with 5% isoflurane in oxygen. Surgical anesthetic levels were maintained thereafter by inhaled isoflurane in oxygen at concentrations comprised between 1.5 and 2.0%. The anesthetic gasses were delivered via face mask (Stoelting, Illinois, US) at approximately 400 ml·min⁻¹. Intraoperative monitoring of heart rate, oxygen saturation and respiratory rate was carried out using a MouseOx vital monitor for rodents (STARR Life Sciences Corp, Pennsylvania, US). Core temperature was regulated continuously and maintained between 36.5 °C and 38 °C using a rectal thermometer in close-loop feedback with a heating blanket positioned under the body of the animal. An intramuscular injection of dexamethasone $(0.06 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1})$ was administered to reduce surgical-related inflammation, and a subcutaneous injection of atropine (0.06 mg·kg⁻¹) was given to reduce intraoperative bronchial secretions. Then, lignocaine spray was administered into the ears of the animal. Prior to securing the animal within a stereotaxic apparatus, correct anesthetic depth was assessed by verifying of the absence of palpebral and withdrawal reflexes, and by checking heart and respiratory rates against the values reported previously [8]. To avoid hydroxymethylcellulose corneal dehydration, was regularly applied.

2.2. Surgery

After trimming the fur and disinfecting the skin with povidone-iodine, a longitudinal incision was made above the midline of the head. The connective tissue was blontdissected and the periosteum carefully retracted to minimize the formation of post-operative scar tissue. Coordinates from Paxinos and co-workers [9] were used to locate the brain structures where to implant the stimulating and the recording electrodes. Thus, a burr hole was opened in the skull to access the optic nerve layer of the superior colliculus (SC), with coordinates centered 6 mm caudal to bregma and 1 mm lateral to the midline. After peeling off the dura matter, a custom tetrode made from braided Teflon-coated tungsten wires (25 µm in diameter) was advanced to a depth of 3.1 mm. Similarly, a second burr hole was opened to access the primary visual cortex (PVC) with coordinates 7 mm caudal to bregma and 3 mm lateral to the midline. Then, a second tetrode was advanced 0.4 mm below the surface of the brain. A third opening was made on the skull (0.4 mm caudal to bregma, 0.2 mm lateral to midline) to access the optic chiasm (OC), as shown in Fig. 1. A pair of Teflon-coated tungsten wires, 50 µm in diameter and with approximately 300 µm of the metal exposed at the tip, penetrated to a depth of 8.2 mm. These electrodes were used produce an artificial input to the visual system by electrically activating the passing axons of the retinal ganglion cells (RGCs). It has to be noted that the axons of these cells extend from the optic nerve through the OC to higher visual centers in the brain. Two stainless steel screw electrodes were placed, one on the contralateral hemisphere to the recording electrodes (reference electrode), and the other, on the midline, 3 mm rostral to bregma (ground electrode). In addition, a couple of hook electrodes, made from Teflon-coated tungsten wires (50 µm in diameter), were implanted into the orbicularis oculi (OC)muscle record to its electromiographic (EMG) activity. All connecting wires were soldered to a couple of six-pin sockets (RS Amidata, Madrid, Spain) which in turn were affixed to the skull using anchoring bone screws and dental cement [10]. The incision was then sutured and an antibiotic ointment was applied topically to prevent infection of the wound. At the end of the surgical intervention, an intramuscular injection of amoxicillin (5 mg kg⁻¹) and clavulanic acid (20 mg kg⁻¹) was administered as prophylaxis. Additionally, a subcutaneous injection (5 ml \cdot kg⁻¹) of sodium lactate and saline, in equal proportions, was administered to ensure body hydration during early recovery.

2.3. Post-operative care

After surgery, the animal was placed within a box with the temperature regulated *via* heat lamp. To reduce postsurgical pain, a subcutaneous injection of buprenorphine $(0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ was administered. The animal was then monitored until anesthetic effects fully disappeared, typically 1 to 4 hours after secession of anesthesia. Additionally, an extra dose $(0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ of buprenorphine was given, every six hours, if pain manifestations were observed during the first 24 hours. The animal was then housed in isolation to avoid damage in the wound. The cage was provided with moisturized



Figure 1: diagram of the implanted recording and stimulating electrodes. Two tetrodes, made of tungsten wires, were implanted into the superior colliculus (SC) and the primary visual cortex (PVC) to record the local field potentials. A pair of tungsten wires was advanced into the optic chiasm (OC) to stimulate the axons of the retinal ganglion cells. Two stainless-steal screw electrodes were used as reference (REF) and ground (GND) respectively. Additionally, a pair of bipolar hook electrodes was implanted into the orbicularis oculi (OO) muscle to register its electrical activity.

pellets distributed on the bedding to facilitate access to food and water. During the following 10 days, the animals were carefully monitored with especial attention to excretions, wound healing and body weight. In case of signs of infection, topic antibiotic ointment was applied on the sutures and an additional dose of antibiotic was administered intramuscularly. If pain behaviors were observed, a subcutaneous injection of carprofen (5 mg·kg ¹) was administered daily until cessation of the animal's discomfort. After the post-surgical follow-up period, the animals underwent between two and five 10-minute handling sessions in order to get used to wearing the ribbon cables used to connect the implants to the recording and stimulating devices. At the end of the experiments, the animals were re-anesthetized with isoflurane and euthanized via intra-peritoneal injection of sodium pentobarbital (>100 mg·kg⁻¹).

2.4. Recording and stimulation system

Two recording electrodes from each tetrode, and the OO electrodes, were interfaced to a Grass P511 differential amplifier (Astro-Med, Inc., West Warwick, USA) with low-pass and high-pass filtering settings set to 0.1 Hz and 10 kHz respectively. The output of each amplifier was then connected to a Power1401-3A digitizer (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) with the sampling rate set to 25 kHz. Biosignals were stored in a personal computer running the software package Spike2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Visual stimuli were generated using a white light-emitting diode placed approximately in the center of the experimental cage. A light pulse, 300 ms in duration, was presented 50 times with the inter-stimulus time set to 1013 ms. This time was chosen to reduce the effect of line noise when performing the ensemble average of the responses.



Figure 2: ensemble average of the visual evoked potentials (VEPs) recorded from the primary visual cortex (PVC) and the superior colliculus (SC) in a behaving Wistar rat. The responses were obtained by calculating the average of the local field potentials elicited with a 300-ms light pulse with onset at t=0. The visual stimulus was repeated 50 times.

Visually Evoked Potentials (VEPs) were used to verify correct neural recordings from the targeted centers in the visual system. Constant-current biphasic pulses were generated using a neural stimulator ISU 175 (Cibertec, Madrid, Spain) and delivered into the OC. The amplitude was comprised between 0 and 50 μ A, the phase time was set to 50 μ s, and the inter-phase delay was set to 20 μ s. Each electrical stimulus was repeated 50 times.

2.5. Data analysis

All neural signals acquired during the experiments were exported from Spike2 into Matlab (The Mathworks, MA, USA) format. The tracings were then analyzed using custom scripts written and run under Matlab 2017a. To characterize the response to both, visual and electrical stimuli, the ensemble average of the local field potentials (LFPs) elicited after the delivery of each stimulus was calculated.

3. Results

All three animals recovered satisfactorily during the follow-up period and underwent electrophysiological evaluation. VEPs and EEPs were demonstrated in two animals and only responses from both, SC and PVC were obtained from one rat. The latency to the first peak of the VEP recorded from SC and PVC were 28 ms and 38 ms respectively as illustrated in Fig. 2. Visual responses appeared substantially quicker when compared to those in anaesthetised rats [11, 12].

Electrical stimulation of the OC produced activation of the neural fibers with current amplitudes as low as 10 μ A, as shown in Fig. 3. In a previous publication [11], the authors reported SC recordings in which the response to electrical stimulation of the optic nerve appeared within the first 5 ms post-stimulus (direct activation of the RCGs). Nevertheless, in awake rats the first peak appeared approximately 1 ms after the delivery of the electrical stimulus, in this case, at the OC, which is located substantially closer to the SC. A second peak in the EEP was observed 3 ms post-stimulus. SC recordings showed



Figure 3: ensemble average of the electrically evoked potentials recorded from superior colliculus (SC) (top panel) and primary visual cortex (bottom panel). Direct activation of the retinal ganglion cells (RGCs) is highlighted in color gray, where a first

peak (P1) occurs in the responses evoked in the superior colliculus (SC). In the green region, a second peak (P2) and a first peak (P1) were demonstrated in the SC and the visual cortex respectively. A delayed second peak P2 appeared in visual cortex recordings only. Electrical stimuli were delivered at t=0.

the same number of peaks in both, awake and anaesthetized animals, however, the latencies were slightly shorter in the former group. PVC recordings showed two peaks as well, 4 ms and 10 ms after the delivery of the electrical stimulus respectively.

The OO muscle controls eyelid closure, and therefore, by recording its electrical activity it is possible to determine blinking times - these types of recordings are typically used in the study of the blinking reflex. In this work, these electrodes were implanted as part of the pilot study, but at this stage, blinking activity was not considered. However, following electrical activation of the OC, an evoked potential was observed as shown in Fig. 4. These responses were probably produced by the antidromic propagation of the action potentials elicited at the distal axon of the RGCs which caused subsequent activation of the retinal neurons.

4. Discussion and Conclusions

While there are previous studies on the chronic implantation of bionic eyes [13, 14], not many have reported the neural activity of the higher visual centers in



Figure 4: example of the electrical activity registered from the orbicularis oculi (OO) muscle (top panel) and from the superior colliculus (SC) (bottom panel) following electrical stimulation of the optic chiasm (delivered at t=0). The OO electrodes were implanted to register the electro-myographic (EMG) activity, however, an evoked potential was observed, likely caused by the antidromic activation of the retinal neurons. Electrically evoked potentials (EEPs) were simultaneously demonstrated in the SC. The stimulus was a biphasic constant-current pulse, 50 μ A in amplitude, with 50 μ s and 20 μ s phase and inter-phase times respectively.

the brain following electrical activation of the visual pathway without the effects of anesthesia. Most chronic pre-clinical studies have been conducted with the aim of assessing the safety of the implants. However, preclinical testing of therapeutic efficacy has mainly shown insights through electro-retinographic recordings in awake animals or in electrophysiological investigations under general anesthesia [8, 13]. The methodology described here has demonstrated neural activation of higher visual centers following electrostimulation, in this case, of the OC. This can be used to further explore some of the major challenges related to the different modalities of visual restoration, including both, biological and technological strategies.

The surgical procedure, if mastered, can be successfully accomplished in approximately 90 minutes. A rapid surgical implantation can help reducing post-operative complications. In fact, no adverse event was reported during the course of this study, and all animals recovered normal behavior within the first half of the post-operative follow-up period. However, and taking into account that stimulation of the OC will produce a binocular activation of the visual centers, it is highly recommended to place the reference electrode away of the contralateral visual cortex. This may explain why in one of the animals, PVC recordings were demonstrated but not those arising from SC electrodes. Absence of any type of EEP in the third animal was probably caused by misplacement of the stimulating electrode. It has to be also noted that the use of smaller recording electrodes may assist with registering spiking activation. Unitary or multi-unit activity will shed light on the origin of the LFPs thus recorded.

Acknowledgements

This research has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Sklodowska-Curie grant agreement No 746526. The author would also like to thank Mr. Jose Maria Gonzalez Martin for his assistance with the surgical implantation of the recording and stimulating electrodes.

Referencias

- M. S. Humayun, E. de Juan Jr, and G. Dagnelie, "The bionic eye: a quarter century of retinal prosthesis research and development," *Ophthalmology*, vol. 123, pp. S89-S97, 2016.
- [2] K. Stingl, K. U. Bartz-Schmidt, D. Besch, C. K. Chee, C. L. Cottriall, F. Gekeler, *et al.*, "Subretinal visual implant alpha IMS–clinical trial interim report," *Vision Res*, vol. 111, pp. 149-160, 2015.
- [3] A. Barriga-Rivera, L. Bareket, J. Goding, U. A. Aregueta-Robles, and G. J. Suaning, "Visual Prosthesis: Interfacing Stimulating Electrodes with Retinal Neurons to Restore Vision," *Front Neurosci*, vol. 11, p. 620, 2017.
- [4] S. L. Morton, M. L. Daroux, and J. T. Mortimer, "The role of oxygen reduction in electrical stimulation of neural tissue," *J Electrochem Soc*, vol. 141, pp. 122-130, 1994.
- [5] T. Guo, A. Barriga-Rivera, G. J. Suaning, D. Tsai, S. Dokos, J. W. Morley, *et al.*, "Mimicking natural neural encoding through retinal electrostimulation," *in Proc. 8th International IEEE/EMBS Conference on Neural Engineering (NER), Shanghai*, pp. 284-287, 2017.
- [6] A. Barriga-Rivera, T. Guo, C.-Y. Yang, A. Al Abed, S. Dokos, N. H. Lovell, *et al.*, "High-amplitude electrical stimulation can reduce elicited neuronal activity in visual prosthesis," *Sci Rep*, vol. 7, p. 42682, 2017.
- [7] N. C. Sinclair, M. N. Shivdasani, T. Perera, L. N. Gillespie, H. J. McDermott, L. N. Ayton, *et al.*, "The appearance of phosphenes elicited using a suprachoroidal retinal prosthesis," *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 57, pp. 4948-4961, 2016.
- [8] A. Barriga-Rivera, V. Tatarinoff, N. H. Lovell, J. W. Morley, and G. J. Suaning, "Long-term anesthetic protocol in rats: feasibility in electrophysiology studies in visual prosthesis," *Vet Ophthalmol*, vol. 21, pp. 290-297, 2018.
- [9] G. Paxinos, C. R. Watson, and P. C. Emson, "AChEstained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates," *J Neurosci Methods*, vol. 3, pp. 129-149, 1980.
- [10] I. Fernández-Lamo, J. M. Delgado-García, and A. Gruart, "When and where learning is taking place: multisynaptic changes in strength during different behaviors related to the acquisition of an operant conditioning task by behaving rats," *Cereb Cortex*, vol. 28, pp. 1011-1023, 2017.
- [11] A. Barriga-Rivera, G. J. Suaning, J. M. Delgado-Garcia, and A. Gruart, "Optic nerve and retinal electrostimulation in rats: direct activation of the retinal ganglion cells," *in Proc. 40th Annual International IEEE/EMBS Conference, Honolulu,* pp. 1226-1229, 2018.
- [12] A. Barriga-Rivera, T. Guo, J. W. Morley, N. H. Lovell, and G. J. Suaning, "Retinal electrostimulation in rats: Activation thresholds from superior colliculus and visual cortex recordings," *in Proc. 39th Annual International IEEE/EMBS Conference, Jeju*, pp. 1166-1169, 2017.
- [13] J. Villalobos, D. A. Nayagam, P. J. Allen, P. McKelvie, C. D. Luu, L. N. Ayton, *et al.*, "A wide-field suprachoroidal retinal prosthesis is stable and well tolerated following chronic implantation," *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 54, pp. 3751-3762, 2013.
- [14] D. A. Nayagam, R. A. Williams, P. J. Allen, M. N. Shivdasani, C. D. Luu, C. M. Salinas-LaRosa, *et al.*, "Chronic electrical stimulation with a suprachoroidal retinal prosthesis: a preclinical safety and efficacy study," *PLoS One*, vol. 9, p. e97182, 2014.

Análisis de la Variabilidad del Ritmo Cardiaco para la Predicción de la Parada Cardiaca Extrahospitalaria Recurrente

A. Elola¹, E. Rueda¹, N. Amezaga¹, E. Aramendi¹, U. Irusta¹

¹ Departamento de ingeniería de comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España, andoni.elola@ehu.eus

Resumen

La parada cardiaca extrahospitalaria recurrente se produce cuando el paciente que tras recuperar el pulso al ser tratado por los servicios de emergencias, recae en una segunda parada prehospitalaria. Dicho fenómeno se ha asociado con menores probabilidades de supervivencia, y su predicción puede ser vital en la toma de decisiones sobre el tratamiento post parada. El objetivo de este trabajo es analizar la relación entre diferentes descriptores de la variabilidad del ritmo cardiaco calculados en el ECG y la parada recurrente. Para ello, se consideraron 98 pacientes (41 con parada recurrente) y se extrajeron 18 descriptores calculados en la ventana contigua a la recuperación de la circulación espontánea. Para la clasificación se utilizaron un clasificador Random Forest y se aplicaron 50 veces la validación cruzada con 5 grupos. Los mejores resultados se obtuvieron para ventanas de 2 minutos, con una mediana AUC (área bajo la curva) de 0.75. Los predictores más importantes para dicho modelo fueron los descriptores del diagrama de Poincaré, SD2 v la relación SD1/SD2, así como la frecuencia asociada al pico máximo en la banda HF (0.15-0.4 Hz).

1. Introducción

La parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria es un problema de salud pública en los países industrializados. Los servicios de emergencias tratan más de 275000 pacientes al año debido a una parada a nivel europeo [1], y se estima que sólo se presencia un 60% de los casos [2]. La terapia básica incluye compresiones torácicas y ventilaciones para mantener un flujo mínimo de oxigenación en los órganos vitales, y la desfibrilación eléctrica, cuyo propósito es restaurar la funcionalidad del corazón. El objetivo principal de la terapia es la recuperación de la circulación espontánea (RCE). Una vez alcanzado este punto se comienza con la terapia de post-resucitación [3], la cual es uno de los eslabones clave para la supervivencia del paciente, e incluye el transporte del paciente al hospital.

Sin embargo, un porcentaje importante de pacientes, cercano al 24% [4], sufre una segunda parada con pérdida de pulso tras la RCE. Este fenómeno conocido como parada recurrente, PaR, a pesar de estar asociado con una peor probabilidad de supervivencia, no está asociado a unas causas conocidas y son pocos los métodos automáticos desarrollados para su predicción [5]. Un sistema que ayudara a cuantificar las probabilidades de PaR de un paciente permitiría optimizar el tratamiento post-parada suministrado. Por ejemplo, podría determinar el tratamiento farmacológico, o si el paciente debe ser transportado al hospital, ya que una parada dentro de la ambulancia dificulta y retrasa la terapia de resucitación.

En este estudio se aplican técnicas de aprendizaje automático para la predicción de la PaR una vez que el paciente haya recuperado el pulso. Para la extracción de características se utilizan parámetros de variabilidad del ritmo cardiaco calculados a partir de la forma de onda del electrocardiograma (ECG) y se analiza la importancia de cada uno con el fin de entender mejor qué es lo que influye en la PaR.

2. Métodos

2.1. Base de datos y proceso de anotación

La base de datos se construyó a partir de un registro de 1015 episodios adquiridos en pacientes en parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria en Dallas (Texas) por *DFW Center for Resuscitation Research*. Todos los episodios se registraron utilizando el dispositivo *Philips HeartStart MRx*, el cual adquiere el ECG mediante los parches de desfibrilación con una frecuencia de muestreo de 250 Hz y una resolución de 1.03 μ V por bit menos significativo.

Gracias a la información clínica disponible se conoce si el paciente recupero el pulso y el instante en el que el paciente recuperó el pulso (t_{RCE} anotado por el rescatador en escena). El criterio de inclusión exige un pulso mantenido al menos durante 2 minutos.

El criterio se cumplió en 98 casos (de los cuales 41 sufrieron una PaR), y se analizaron los 12 minutos posteriores a t_{RCE} . Si el paciente sufre una PaR en esos 12 minutos se anota como 1 (PaR), y en el caso contrario se anota como 0 (no hay PaR). La PaR se identifica cuando se observa un ritmo cardiaco maligno en el ECG (asistolia, actividad eléctrica sin pulso o fibrilación ventricular) o cuando el rescatador reinicia la terapia de reanimación con compresiones torácicas.

La Figura 1 muestra el ejemplo de un paciente que cumplió el criterio de inclusión (t_{PaR} - t_{RCE} >2 min). Dicho paciente recuperó la circulación espontánea tras recibir la terapia de resucitación, pero al cabo de dos minutos y medio muestra una fibrilación ventricular, que es una arritmia que causa la muerte si no se trata inmediatamente.

2.2. Extracción de características

Para la extracción de características, se consideró una ventana de duración t_w después de t_{RCE} tal y como se muestra en le Figura 1, y se extrajeron 18 descriptores de la variabilidad del ritmo cardiaco por ventana y paciente. El análisis se realizó para $t_w=120$ s y $t_w=60$ s.



Figura 1. Forma de onda del ECG de 5 minutos y 30 segundos de un paciente que sufre una parada recurrente. El paciente recupera la circulación espontánea en el instante t_{RCE} y lo pierde en el instante t_{PaR} (aproximadamente dos mintos y medio más tarde)

La señal de ECG se filtró entre 0.5 y 40 Hz utilizando un filtro Butterworth de orden 4 y filtrado de fase cero, y se anularon aquellas ventanas con una varianza móvil superior a cierto umbral con el fin de facilitar la detección automática de los complejos QRS. Para el cálculo de la serie temporal RR, se utilizó el detector QRS de Hamilton-Tompkins para conocer los instantes de las ondas R.

Las características extraídas se pueden dividir en 3 grupos principales [6]:

- Dominio temporal: Media de los intervalos RR (v₁), desviación estándar (v₂), RMSSD (v₃, root mean squared of the succesive differences), coeficiente de variación (v₄, definido como v₂/v₁)
 [7] nNN50 (v₅, cantidad de intervalos RR que difieren más de 50 ms), pNN50 (v₆, nNN50 dividido entre la cantidad de intervalos RR) y rango intercuartílico de la serie RR (v₇).
- **Dominio frecuencial:** El espectro de la serie temporal RR se estima utilizando el periodograma de Lomb-Scargle y se analizan dos bandas, LF (0.04-0.15 Hz) y HF (0.15-0.4 Hz). Las características extraídas son la potencia absoluta y relativa de la banda LF (v_8 y v_9) y de la banda HF (v_{10} y v_{11}), la relación v_8/v_{10} (v_{12}), frecuencia correspondiente al pico en la banda LF (v_{13}) y la frecuencia correspondiente pico máximo en la banda HF (v_{14}).
- **Descriptores no lineales:** Se calculan los descriptores que caracterizan la forma geométrica del diagrama de Poincaré, SD1 (v_{15}) y SD2 (v_{16}) asociados al eje menor y mayor de la elipse ajustadas, respectivamente, así como la relación SD1/SD2 (v_{17}). Por último, se remuestrea la serie temporal de los intervalos RR con una frecuencia de muestreo de 10 Hz (mediante la interpolación cúbica) y se calcula la entropía muestral con m=1 y r=0.2 (v_{18}).

2.3. Clasificación

Todas las características extraídas se utilizaron como entrada a un clasificador *Random Forest* de 100 arboles [8]. Dicho clasificador tiene una funcionalidad interna para medir las importancias de los descriptores de entrada. Para este trabajo se permutaron los valores de entrada de cada descriptor y se observó cómo variaba el *out-of-bag error* para caracterizar la importancia que tiene cada descriptor.

El clasificador se evaluó utilizando el AUC, es decir, el ROC área bajo la curva (receiver operating characteristics). Para entrenar los modelos se utilizó un esquema de validación cruzada, 5-fold cross-validation. Los datos se particionaron en 5 grupos, y en cada iteración se entrenó el clasificador utilizando 4/5 de los datos y se estimaron los diagnósticos en la parte restante. Cada vez que se entrenó el clasificador también se calcularon las importancias de los descriptores de entrada y se guardaron para su posterior análisis. Además, se volvió a entrenar el clasificador utilizando los N_f descriptores más importantes según el Random Forest. Este proceso se realizó 5 veces, de tal manera que toda la base de datos se utilizó para entrenar y testear el modelo. El cálculo del AUC se realizó comparando las anotaciones manuales (referencia) y las estimaciones del clasificador. Este ciclo se repitió 50 veces para estimar la distribución estadística del AUC.

3. Resultados

Los valores de mediana (percentil 10-percentil 90) del AUC calculados para t_w =60 s y t_w =120 s utilizando los 18 descriptores fueron 0.69 (0.71-0.75) y 0.75 (0.72-0.77), respectivamente. En la Figura 3 se muestran las curvas ROC para ambos valores de t_w , considerando en cada caso la iteración más próxima a la mediana del AUC.

La Figura 2 muestra las distribuciones de las importancias de los descriptores para ambos valores de t_w . Se puede apreciar que para ambos valores de t_w el descriptor más



Figura 2. Distribuciones de las importancias asignadas a cada descriptor por el clasificador Random Forest utilizando ventanas de 60 s (azul) y 120 s (naranja). Los descriptores se ordenan según el valor de la mediana de su valor de importancia y se muestran para tw=60 s en el eje inferior y para tw=120 s en el eje superior



Figura 3. Curvas ROC para diferentes valores de t_w utilizando todos los descriptores. Para ambos casos se tiene en cuenta la iteración que más se acerca a la mediana del AUC

importante fue SD1/SD2. A pesar de que el segundo descriptor más importante es diferente para cada valor de t_{w} , el tercero y el cuarto son comunes, SD2 y el coeficiente de variación. Por otro lado, pNN50, la frecuencia pico en la banda LF y la potencia relativa de la banda LF están entre los 6 peores descriptores en ambos casos.

En la Figura 4 se muestra el comportamiento del clasificador en función del número de descriptores utilizados, N_f : La mediana del valor del AUC muestra que para $t_w=120$ no hay una ganancia significativa a partir de 10 descriptores (AUC \approx 0.75), pero para $t_w=60$ añadir más descriptores es perjudicial. El AUC máximo (\approx 0.73) en el segundo caso se obtiene cuando se entrena el clasificador con 5 descriptores, y desciende a 0.69 si se consideran todos los descriptores.



Figura 4. La mediana del valor del AUC para $t_w=60 \text{ s y}$ $t_w=120 \text{ s en función del número de descriptores incluidos en el clasificador, <math>N_f$

4. Discusión y conclusiones

En este estudio se analiza la relación entre la variabilidad del ritmo cardiaco y la parada recurrente con el objetivo de predecir la PaR en un paciente que ha recuperado el pulso.

Hasta el momento, la bibliografía muestra un interés médico importante en el tema, y unas propuestas modestas de predicción basadas en relaciones numéricas calculadas manualmente sobre el ECG. Son pocos los métodos automáticos propuestos para este fin [9].

El mejor resultado, AUC \approx 0.75, se obtiene para un predictor basado en 11 descriptores de la variabilidad del ritmo cardíaco, calculados en una ventana de 120 s tras la

RCE, lo cual pone de manifiesto relación entre la variabilidad del ritmo cardiaco y la PaR.

La información más significativa se obtiene a partir de los descriptores de la forma geométrica del diagrama de Poincaré, y en general, la información que se obtiene a partir de la banda HF es más significativa que la información que se obtiene de la banda LF para el clasificador. Esto se puede deber al tamaño de la ventana, ya que la duración máxima es de dos minutos. Utilizar ventanas más grandes permitiría el análisis de más bandas y el uso de más descriptores que requieren series temporales RR más largas [6].

Para este estudio se consideraron sólo 98 pacientes, de los cuales 41 sufren una PaR. Tener pocos pacientes también limita a la hora de escoger el valor de t_w , ya que muchos pacientes sufren una parada recurrente entre dos y tres minutos después de la RCE. Analizar ventanas de mayor duración o la evolución temporal de ciertos descriptores en diferentes ventanas podría mejorar los resultados.

En este estudio sólo se consideran descriptores de la variabilidad del ritmo cardíaco. Añadir otros descriptores para caracterizar la forma de onda del ECG (amplitud, duración de los complejos QRS...) podría mejorar los resultados. De hecho, un estudio reciente ha demostrado que la forma de onda de un ECG con un ritmo con pulso contiene información sobre transiciones a un ritmo con pulso o sin pulso [10]. En la Figura 5 se muestra el ejemplo de un paciente que sufre una PaR (panel a), y en el panel b se muestra el ejemplo de un paciente que no sufre ninguna PaR. En el caso del panel a se puede apreciar que los complejos QRS son más inestables, lo que podría considerarse una posible característica de predicción de PaR.



Figura 5. *Ejemplos de ventanas de t*_w=60 *s asociados a dos pacientes de la base de estudio. El caso mostrado en el panel (a) corresponde a un caso con PaR, minestras que en el panel (b) se muestra un caso sin PaR*

En resumen, se puede concluir que existe una relación entre la PaR y los descriptores de la variabilidad del ritmo cardiaco. Los resultados prometedores obtenidos con esta base de datos de 98 pacientes deberían ser contrastados con una base más amplia de registros.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido ayuda financiera del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, proyecto RTI2018-101475-BI00, junto con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), y del Gobierno Vasco mediante la subvención a grupos de investigación IT-1229-19 y la beca PRE_2018_2_0260.

Referencias

- C. Atwood, M. S. Eisenberg, J. Herlitz, y T. D. Rea, «Incidence of EMS-treated out-of-hospital cardiac arrest in Europe», *Resuscitation*, vol. 67, n.º 1, pp. 75–80, 2005.
- [2] J. J. de Vreede-Swagemakers *et al.*, «Out-of-hospital cardiac arrest in the 1990's: a population-based study in the Maastricht area on incidence, characteristics and survival», *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 30, n.º 6, pp. 1500-1505, nov. 1997.
- [3] I. Lund-Kordahl, T. M. Olasveengen, T. Lorem, M. Samdal, L. Wik, y K. Sunde, «Improving outcome after out-ofhospital cardiac arrest by strengthening weak links of the local Chain of Survival; quality of advanced life support and post-resuscitation care», *Resuscitation*, vol. 81, n.º 4, pp. 422-426, abr. 2010.
- [4] A. Bhardwaj *et al.*, «Factors associated with re-arrest following initial resuscitation from cardiac arrest», *Resuscitation*, vol. 111, pp. 90-95, feb. 2017.
- [5] D. D. Salcido, M. L. Sundermann, A. C. Koller, y J. J. Menegazzi, «Incidence and outcomes of rearrest following out-of-hospital cardiac arrest», *Resuscitation*, vol. 86, pp. 19-24, ene. 2015.
- [6] F. Shaffer y J. P. Ginsberg, «An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms», *Front. Public Health*, vol. 5, sep. 2017.
- [7] K. Tateno y L. Glass, «Automatic detection of atrial fibrillation using the coefficient of variation and density histograms of RR and deltaRR intervals», *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 39, n.º 6, pp. 664-671, nov. 2001.
- [8] L. Breiman, «Random Forests», Mach. Learn., vol. 45, n.° 1, pp. 5-32, oct. 2001.
- [9] D. Salcido, M. Sundermann, A. Koller, y J. Menegazzi, «Towards predicting the time and rhythm of rearrest after out-of-hospital cardiac arrest», *Resuscitation*, vol. 96, p. 10, nov. 2015.
- [10] E. Alonso, T. Eftestøl, E. Aramendi, J. Kramer-Johansen, E. Skogvoll, y T. Nordseth, «Beyond ventricular fibrillation analysis: Comprehensive waveform analysis for all cardiac rhythms occurring during resuscitation», *Resuscitation*, vol. 85, n.º 11, pp. 1541-1548, nov. 2014.

Estudio del comportamiento dinámico del EEG durante la progresión de deterioro cognitivo leve a demencia por enfermedad de Alzheimer

P. Núñez¹, J. Poza¹, C. Gómez¹, M. Revilla-Vallejo¹, M. A. Tola-Arribas², M. Cano³, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, pablo.nunez@gib.tel.uva.es

² Servicio de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

³ Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

Resumen

El objetivo de este estudio fue caracterizar los patrones de noestacionariedad en la actividad electroencefalográfica (EEG) durante la progresión de deterioro cognitivo leve (DCL) a la fase de demencia debida a enfermedad de Alzheimer (EA). Para ello, se calculó la divergencia de Kullback-Leibler (KLD) en 43 sujetos sanos de control, 22 pacientes con DCL-EA estable (DCL_E) y 18 con DCL-EA que han progresado a EA (DCL_P). Los resultados indican que las alteraciones en los patrones de noestacionariedad de la actividad neuronal son distintas en los dos subgrupos de DCL-EA. En concreto, los DCL_P incrementan el nivel de no-estacionariedad en la banda beta-2. Asimismo, en la banda alfa, los pacientes con DCL_E muestran cambios que podrían deberse a un mecanismo para compensar las alteraciones cognitivas. Finalmente, las correlaciones observadas entre KLD y las puntuaciones de varios tests clínicos indican que las variaciones de los patrones de noestacionariedad podrían reflejar incipientes alteraciones funcionales, de memoria o cognitivas inducidas por la demencia.

1. Introducción

El cerebro humano es un sistema complejo compuesto por una red de neuronas que participan en una gran cantidad de procesos químicos y eléctricos [1], [2]. Actualmente, la teoría predominante es la de que el cerebro no permanece en un estado inactivo sino intrínsecamente activo y no estacionario durante el reposo [3].

Numerosos estudios han demostrado que los procesos patológicos pueden alterar el envejecimiento fisiológico normal del cerebro [2]. En este sentido, la demencia debida a la enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa que provoca una perturbación de los patrones de actividad cerebral [2]. Dichas alteraciones se han observado en la actividad neuronal durante el reposo mediante medidas de irregularidad, complejidad o predictibilidad, y se han asociado con comportamientos anormales en el procesado y la transmisión de información cerebral [4].

Algunos autores consideran el deterioro cognitivo leve (DCL) como una etapa prodrómica de la EA [5]. El DCL de las personas que desarrollan demencia puede ser muy sutil al inicio, por lo que la transición del mismo a la EA es borrosa [5]. Normalmente, los pacientes con DCL muestran patrones de activación neuronal anormal, pero menos marcada que la de los de pacientes con EA [5]. Por ello, algunos estudios han propuesto que la EA y el DCL forman parte de un único continuo (DCL-EA), si bien no todos los pacientes con DCL-EA llegan a desarrollar la demencia por EA [5]. Debido a esto, y dada la importancia de una detección temprana de la EA, surge la pregunta de si es posible distinguir a aquellos pacientes con DCL-EA que van a desarrollar demencia de aquellos que no lo harán. Las alteraciones en la actividad cerebral provocadas por el DCL se han estudiado con técnicas como la resonancia magnética funcional (fMRI) y la magnetoencefalografia (MEG), entre otras [6]. Estos métodos tienen desventajas, como la baja resolución temporal (fMRI) o el alto coste económico (fMRI, MEG), que impiden su uso generalizado en la práctica clínica [2]. Sin embargo, la electroencefalografía (EEG) es una técnica de bajo coste, que es ampliamente utilizado en entornos clínicos [7]. Además, su alta resolución temporal lo hace una herramienta ideal para estudiar las alteraciones de la dinámica cerebral durante el reposo [7].

En el presente trabajo se pretende caracterizar el nivel de no-estacionariedad de la actividad EEG en el DCL mediante la divergencia de Kullback-Leibler (KLD) basada la transformada wavelet continua (CWT). en Específicamente, se trata de responder a las siguientes preguntas: (i) ¿revela el nivel de no-estacionariedad alteraciones del EEG diferentes en pacientes con DCL-EA en función de su progresión a demencia por EA?; (ii) ¿reflejan los patrones de no-estacionariedad los sutiles cambios funcionales, cognitivos o de memoria asociados a la progresión de DCL-EA a demencia por EA?

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se analizó una población de 81 sujetos: 43 sujetos de control, 22 sujetos con DCL-EA estable (DCL_E) y 18 con DCL-EA que han progresado a demencia por EA (DCL_P). El diagnóstico de progresión o estabilidad se obtuvo tras

Datos	Controles	DCLE	DCLP
N	43	22	17
Edad (años)	75.8 [74.0 78.7]	78.6 [68.5 79.8]	77.3 [74.0 80.3]
Sexo (H:M)	13:30	10:12	5:12
Educación (A:B)	16:27	16:6	12:5
MMSE	29.0 [28.0 30.0]	27.0 [26.6 28.0]	27.0 [25.7 28.0]
T@M	45.0 [42.0 48.0]	34.5 [31.0 37.0]	30.0 [23.7 33.2]
B-ADL	1.1 [1.0 1.3]	2.6 [1.9 2.9]	3.4 [2.9 4.1]

Tabla 1. Características socio-demográficas de la base de datos. DCL_E: pacientes con DCL estables; DCL_P: pacientes con DCL con progresión; H: hombre; M: mujer; A: educación primaria o inferior; B: educación secundaria o superior; MMSE: Mini-Mental State Examination (rango: [0 30]); T@M: test de alteración de memoria (rango: [0 50]); B-ADL: Bayer Activities of Daily Living Scale (rango: [0 10]; Edad, MMSE, T@M y B-ADL: mediana [rango intercuartil].

un seguimiento de varios años en cada paciente. Todos los sujetos patológicos del estudio eran pacientes con DCL debido a EA, de los que se desconocía, en el momento del registro, su posible evolución. Los enfermos fueron diagnosticados según los criterios del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) [8]. Los controles eran personas de edad avanzada sin deterioro cognitivo, ni historial de enfermedades neurológicas o psiquiátricas. Ninguno de los participantes tomaba medicamentos que pudieran influir en los registros EEG.

Las características sociodemográficas de cada grupo se especifican en la tabla 1. No existen diferencias significativas ni en edad (p > 0.05, test de Kruskal-Wallis) ni en sexo (p > 0.05, test Chi-cuadrado), aunque sí en el nivel de educación (p < 0.05, test Chi-cuadrado). Dentro de los dos subgrupos de DCL (DCL_E y DCL_P), no existen diferencias significativas en puntuaciones en el test *Mini-Mental State Examination* (MMSE) (p > 0.05, test U de Mann-Whitney), pero sí en la escala Bayer de actividades de vida diaria (B-ADL) y en el test de alteración de memoria (T@M) (p < 0.001, test U de Mann-Whitney).

Todos los participantes y los cuidadores de los pacientes dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid, España) aprobó el estudio de acuerdo al Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

2.2. Registros electroencefalográficos

Las señales EEG se registraron mediante un sistema EEG de 19 canales (XLTEK[®], Natus Medical) en el Servicio de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid, España). La actividad EEG basal se adquirió en 19 electrodos con una frecuencia de muestreo de 200 Hz. Los sujetos permanecieron con los ojos cerrados, despiertos e inmóviles durante la adquisición del EEG. Se registraron 5 minutos de actividad EEG de cada sujeto. A continuación, se preprocesaron los registros [6]: (i) análisis de componentes independientes para eliminar artefactos; (ii) filtrado para eliminar ruido en 50 Hz y limitar el contenido espectral a la banda [1 70] Hz; y (iii) rechazo visual de artefactos, seleccionándose los 60 primeros segundos consecutivos sin artefactos por sujeto.

3. Métodos

La KLD se calculó a partir de la CWT de cada época de 10 s mediante ventanas deslizantes sin solapamiento, en las bandas de frecuencias convencionales: delta (δ , 1-4 Hz), zeta (θ , 4-8 Hz), alfa (α , 8-13 Hz), beta-1 (β 1, 13-19 Hz), beta-2 (β 2, 19-30 Hz) y gamma (γ , 30-70 Hz). A continuación, la *KLD* se promedió por épocas, reduciendo los datos a matrices de 19 × 6 (electrodos × bandas de frecuencia) para cada sujeto.

3.1. Transformada wavelet continua

La implementación de la *KLD* en el presente estudio se basa en la CWT para construir las representaciones tiempofrecuencia (TFR). La CWT permite un control flexible de la resolución, lo que es apropiado para localizar eventos en tiempo y frecuencia [6]. Los parámetros establecidos para su cálculo son los mismos que los usados en [6].

3.2. Divergencia de Kullback-Leibler (KLD)

A partir de una serie EEG temporal $x(t) = \{x_1, x_2, ..., x_N\}$, se considera $tfr(f_i, n\Delta t)$ su escalograma (valor absoluto de la CWT) en cada frecuencia f_i y muestra temporal $n\Delta t$. La distribución marginal de frecuencia se define como:

$$tfr(f_i) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^{n=N} tfr(f_i, n\Delta t).$$
(1)

A partir de este parámetro, se calcula la distribución TFR temporal:

$$p_{f_i,n\Delta t} = \frac{1}{N} \frac{tfr(f_i, n\Delta t)}{tfr(f_i)}$$
(2)

La *KLD* mide la discrepancia entre dos distribuciones $p_{f_i,n\Delta t}$ y $q_{f_i,n\Delta t}$. Se calcula de la siguiente forma [6]:

$$KLD(f_i) = \sum_{n=1}^{n=N} \log_2 \frac{q_{f_i, n\Delta t}}{p_{f_i, n\Delta t}}.$$
(3)

En esta implementación de la *KLD*, $q_{f_i,n\Delta t}$ se corresponde con una distribución uniforme en el dominio temporal $\{q_{f_i,n\Delta t} = q_0 = 1/N\}$. Si la señal es estacionaria, $tfr(f_i,n\Delta t)$ es constante para cada f_i (i.e., $tfr(f_i,n\Delta t) =$ $tfr(f_i)$, lo que resulta en $KLD(f_i) = 0$. La *KLD* aumenta a medida que la señal se vuelve menos estacionaria en una



Figura 1. Distribuciones de los valores promedio de KLD en las bandas de frecuencia bajo estudio. Las diferencias estadísticamente significativas están marcadas con rectángulos azules (test de Kruskal-Wallis, p < 0.01).

frecuencia dada f_i [6]. Puede interpretarse entonces la *KLD* como un indicador del nivel de no-estacionariedad de la TFR. La *KLD* se calculó a partir de la CWT en el rango de frecuencia [1 70] Hz y, posteriormente, se promedió en las bandas de frecuencia bajo estudio, previa aplicación del cono de influencia [9].

3.3. Análisis estadísticos

Se realizó un análisis exploratorio para evaluar la normalidad y homocedasticidad de las distribuciones de valores de KLD. Los resultados mostraron que los datos no cumplían las condiciones de los tests paramétricos. Por lo tanto, las diferencias entre grupos se evaluaron con tests no paramétricos. Se utilizó el test de Kruskal-Wallis sobre los valores promedio de todos los electrodos para detectar interacciones globales en cada banda de frecuencia. En aquellas bandas donde el nivel de significación del test fue p < 0.01, se aplicaron tests U de Mann-Whitney para detectar diferencias estadísticamente significativas entre pares de grupos a nivel espacial (corregidos estadísticamente mediante False Discovery Rate, FDR). Finalmente, se realizó un análisis de correlaciones parciales de Pearson, corregidas por la educación, entre los valores de KLD promedio y las puntuaciones de los tests MMSE, T@M y B-ADL.

4. Resultados y discusión

Los valores de KLD promedio por canales se muestran en la figura 1 para cada banda de frecuencia considerada. Se encontraron interacciones estadísticamente significativas (test de Kruskal-Wallis, p < 0.01) en las bandas alfa y beta-2. El comportamiento en alfa muestra que aquellos pacientes con DCL-EA que no evolucionan a EA tienen valores de KLD inferiores a los de aquellos que sí evolucionan. En la banda beta-2 los valores de KLD muestran una evolución creciente conforme avanza la enfermedad. Las comparativas topográficas (figura 2) revelan que los pacientes con DCL_E tienen un nivel de noestacionariedad significativamente inferior a los controles en todo el cuero cabelludo, mientras que en el caso de los pacientes con DCL_P el efecto se limita a la región temporal derecha y parte de la izquierda. En la banda beta-2 únicamente los pacientes con DCLP muestran valores de KLD significativamente mayores que los controles. Estos resultados sugieren que las alteraciones que induce la EA son diferentes en los dos subgrupos de DCL. En particular, el comportamiento en la banda alfa sugiere que la actividad EEG de los pacientes con DCL_E podrían mostrar un mecanismo de compensación [10] que no aparece en los pacientes con DCL_P y podría estar asociada al desarrollo o no de la misma.

En cuanto a las correlaciones de los valores de *KLD* promedio por canales con los parámetros clínicos (figura 3), se observa que, en la banda alfa, *KLD* es sensible al deterioro funcional (B-ADL) y de la memoria (T@M) en DCL_E (B-ADL: p = 0.07; T@M: p = 0.007) y DCL_P (B-ADL: p = 0.005; T@M: p < 0.001). Por otra parte, en la banda beta-2, los tests B-ADL y T@M están correlacionados con *KLD* únicamente para DCL_P (B-ADL y T@M: p < 0.001). Estos resultados sugieren que *KLD* en la banda beta-2 es más sensible a las alteraciones tempranas en la función y en la memoria. En el caso de los

resultados obtenidos para el test MMSE, KLD en la banda alfa es sensible al deterioro en la cognición únicamente en los pacientes con DCL_E (p = 0.009). De la misma forma, en la banda beta-2 los cambios de KLD están levemente correlacionados de forma significativa para DCL_E (p =0.046). Los resultados en la banda alfa podrían indicar que aquellos pacientes con DCL-EA que se han visto más afectados en pérdida de cognición desarrollan un mecanismo de compensación más fuerte. Éste podría contribuir a evitar la progresión a una etapa leve de demencia, lo que no se observa en pacientes con DCL-EA que desarrollaron EA pasado un tiempo. En un estudio previo se encontró una correlación moderada entre la lentificación del EEG y la puntuación MMSE en pacientes con DCL-EA y demencia leve por EA [11]. A su vez, un estudio en EEG encontró una correlación entre la conectividad funcional y la puntuación del examen cognitivo de Addenbrooke en las bandas zeta y beta para controles, DCL-EA y demencia leve debida a AD [12]. Estos resultados apoyan el hallazgo de que las alteraciones en la actividad EEG pueden ser sensibles a alteraciones (funcionales, cognitivas o de memoria) de la enfermedad. Este estudio tiene varias limitaciones. El número de pacientes con DCL-EA que tienen datos de progresión (o no) es limitado, por lo que sería interesante continuar aumentando el tamaño muestral del estudio longitudinal. A su vez, sería interesante explorar el efecto de la progresión del deterioro cognitivo a la demencia sobre la conectividad funcional dinámica o la transición entre los distintos estados de activación o conectividad, ya que es una línea de gran relevancia actualmente.

5. Conclusión

En este estudio se han analizado los patrones de noestacionariedad en la actividad EEG que caracterizan la progresión (o no) de la fase de DCL a demencia por EA. Los resultados sugieren que las alteraciones en la noestacionariedad inducidas por el DCL-EA son distintas en los dos subgrupos considerados. Asimismo, las alteraciones en los patrones de no estacionariedad en las



Figura 2. Mapas topográficos de las comparaciones estadísticas entre controles sanos y pacientes con DCL_E y DCL_P para KLD en las bandas (a) alfa y (b) beta-2. Los colores cálidos indican un aumento significativo en el segundo grupo, mientras que los fríos indican lo contrario (test U de Mann-Whitnev corregido con FDR).



Figura 3. Correlaciones entre el promedio de KLD por canales y los tests B-ADL, MMSE y T@M en las bandas (a) alfa y (b) y beta-2. Los puntos verdes representan los sujetos de control, los azules los DCL_E y los rojos los DCL_P. La línea azul representa la regresión lineal para controles y DCL_E, mientras que la línea roja se corresponde con la regresión para controles y DCL_P. Los coeficientes de correlación parcial (ρ) representan la correlación para controles y DCL_P (en rojo). Las escalas de los tests clínicos (eje X) están ordenadas para que puntuaciones más a la derecha indiquen un mayor deterioro.

bandas alfa y beta-2 son capaces de reflejar los incipientes déficits funcionales, cognitivos y de memoria provocados por la progresión de DCL a demencia por EA. En conclusión, los resultados obtenidos indican que esta puede ser una línea de investigación prometedora para la ayuda al diagnóstico temprano de la EA.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto PGC2018-098214-A-I00 del 'Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades' y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), y 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 FEDER. P. Núñez disfruta de un contrato predoctoral 'Ayuda para contratos predoctorales para la Formación de Profesorado Universitario (FPU)' del 'Ministerio de Educación, Cultura y Deporte' (FPU17/00850).

Referencias

- E. Tognoli y J. A. S. Kelso, "The Metastable Brain," *Neuron*, vol. 81(1): 35–48, 2014.
- [2] C. Babiloni *et al.*, "Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms," *Int. J. Psychophysiol.*, 103: 88– 102, 2016.
- [3] C. M. Michel y T. Koenig, "EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal

networks: A review," Neuroimage, 180: 577-593, 2018.

- [4] J. Dauwels *et al.*, "Diagnosis of Alzheimer's Disease from EEG Signals: Where Are We Standing?," *Curr. Alzheimer* Res., 7(6): 487–505, 2010.
- [5] R. C. Petersen, "Mild cognitive impairment as a clinical entity and treatment target.," *Arch. Neurol.*, 62(7): 1160– 1167, 2004.
- [6] P. Núñez et al., "Exploring non-stationarity patterns in schizophrenia: neural reorganization abnormalities in the alpha band," J. Neural Eng., 14(4): 046001, 2017.
- [7] J. Poza et al., "Spatio-Temporal Fluctuations of Neural Dynamics in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease," Curr. Alzheimer Res., 14(9): 924–936, 2017.
- [8] G. McKhann *et al.*, "The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease," *Alzheimers Dement.*, 7(3): 263–269, 2011.
- [9] C. Torrence y G. P. Compo, "A practical guide to wavelet analysis," *Bull. Am. Meteorol. Soc.*, 79(1): 61–78, 1998.
- [10] F. Maestú *et al.*, "Brain Activity Patterns in Stable and Progressive Mild Cognitive Impairment During Working Memory as Evidenced by Magnetoencephalography," *J. Clin. Neurophysiol.*, 28(2): 202–209, 2011.
- [11] J. Choi *et al.*, "Resting-state prefrontal EEG biomarkers in correlation with MMSE scores in elderly individuals," *Sci. Rep.*, 9(1): 10468, 2019.
- [12] C. S. Musaeus *et al.*, "Altered Low-Frequency EEG Connectivity in Mild Cognitive Impairment as a Sign of Clinical Progression," *J. Alzheimer's Dis.*, 68(3): 947–960, 2019.

Evaluación de la Calidad en Registros Electrocardiográficos de Larga Duración y Una Sola Derivación Mediante una Red Neuronal Convolucional

A. Huerta¹, A. Martínez-Rodrigo¹, V. Bertomeu González², A. Quesada³, J.J. Rieta⁴, R. Alcaraz¹

¹ Grupo de Investigación en Ingeniería Electrónica, Biomédica y de Telecomunicación, Universidad

de Castilla-La Mancha, Cuenca, España, {alvaro.huerta, arturo.martinez, raul.alcaraz}@uclm.es

² Departamento de Cardiología, Hospital Universitario de San Juan, Alicante, España, vbertog@gmail.com ³ Unidad de Arritmias, Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, España, quesada_aur@gva.es

⁴ BioMIT.org, Dep. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politecnica de Valencia, Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La señal electrocardiográfica (ECG) se caracteriza por ser muy sensible a las perturbaciones que aparecen durante su adquisición. Aunque actualmente en registros cortos se ha conseguido minimizar el impacto de estos ruidos hasta conseguir diagnósticos fiables, no ocurre lo mismo en señales adquiridas para largos períodos de tiempo y, especialmente, en aquellas que se obtienen con los sistemas actuales de registro vestibles. Así pues, teniendo en cuenta la gran cantidad de información registrada en estos casos, la identificación automática de los intervalos con calidad suficiente para su interpretación clínica es un reto muy interesante que está pendiente de abordar. Además, aunque en la literatura se pueden encontrar algunos métodos para evaluar la calidad del ECG, la mayoría están orientados a trabajar con señales estándar de 12 derivaciones y no son, por tanto, aplicables en el contexto descrito, ya que estos dispositivos suelen registrar entre 1 y 3 derivaciones. Por tal motivo, en este trabajo se propone un algoritmo capaz de discernir automáticamente entre intervalos de baja y alta calidad en registros de ECG de muy larga duración y una sola derivación. El método está basado en la elevada capacidad de aprendizaje de una red neuronal convolucional, alimentada con las imágenes obtenidas al aplicar una transformación Wavelet continua al ECG. Para su validación se ha empleado una base de datos pública, la cual contiene intervalos de ECG extraídos desde un sistema de monitorización a muy largo plazo de pacientes con alteraciones en el ritmo cardíaco. Los resultados han mostrado que el método es capaz de discernir correctamente entre más del 90 % de los intervalos de alta y baja calidad, obteniendo una sensibilidad ligeramente superior a la especificidad.

1. Introducción

El proceso de adquisición de las señales fisiológicas se ve a menudo dificultado por la presencia de ruido e interferencias, haciendo imposible su posterior interpretación y análisis [1]. Esta situación es especialmente relevante en el caso del electrocardiograma de superficie, ya que sigue siendo todavía la señal más empleada para diagnosticar muchas enfermedades cardiovasculares, las cuales son responsables del 30 % de todas las muertes a nivel mundial [2]. Aunque actualmente en registros cortos de ECG se ha conseguido minimizar el impacto de estos ruidos hasta conseguir diagnósticos fiables, no ocurre lo mismo en las señales adquiridas para largos períodos de tiempo y, especialmente, en aquellas que se obtienen con los sistemas actuales de registro vestibles [3]. Estos sistemas se han concebido para registrar la actividad cardíaca del paciente durante el desarrollo de sus actividades cotidianas, permitiendo así un mejor diagnóstico o seguimiento de algunos problemas cardiovasculares. Sin embargo, precisamente por el contexto en el que se adquieren las señales, suelen presentar niveles de ruido mucho más altos que el ECG obtenido en reposo [4, 5].

Teniendo en cuenta este contexto y la gran cantidad de información que suelen adquirir estos sistemas de monitorización a largo plazo, la identificación automática de aquellos intervalos de ECG con calidad suficiente para su interpretación es un reto muy interesante. De hecho, en los últimos años algunos autores han propuesto varios métodos con este fin, los cuales han sido recopilados por Satija et al. en un reciente trabajo de revisión [6]. Brevemente, los autores han clasificado todos los métodos en cinco grupos: (1) aquellos basados en características fiduciales y reglas heurísticas; (2) aquellos basados en características fiduciales y aprendizaje automático no supervisado; (3) aquellos basados en características no fiduciales y reglas heurísticas; (4) aquellos basados en características no fiduciales y aprendizaje automático; y finalmente (5) aquellos basados en técnicas de filtrado.

Lamentablemente, todos estos métodos se caracterizan por analizar la calidad global del ECG estándar de 12 derivaciones [6], de forma que no son aplicables al reducido número de señales simultáneamente disponibles en los sistemas actuales de registro vestibles. Por tal motivo, en este trabajo se presenta un algoritmo novedoso capaz de discernir entre tramos de alta y baja calidad en registros de ECG de una sola derivación y larga duración. El método se basa en la elevada capacidad de aprendizaje de las redes neuronales convolucionales para diferenciar entre aquellos intervalos totalmente limpios de ruido y aquellos que presentan artefactos de movimiento suficientemente elevados como para enmascarar parcial o completamente la información clínica.

La gran evolución que han experimentado las redes neuronales en los últimos años ha permitido el desarrollo de multitud de metodologías capaces de tratar y procesar diferentes tipos de señales fisiológicas desde varios puntos de vista, tal como se recoge en el trabajo de revisión de Faust *et. al.* [7]. No obstante, aunque estas redes presentan características que no parecen ser muy adecuadas para tratar con ECGs de 12 derivaciones [8], se puede esperar que resulten de utilidad para analizar señales de una sola derivación. De hecho, en trabajos previos, diferentes tipos de redes neuronales han sido capaces de diferenciar entre registros de ECG de una sola derivación con diferentes características [7].

2. Métodos

2.1. Base de datos

Con la finalidad de que los resultados puedan ser reproducidos por la comunidad científica, el método propuesto se ha validado mediante una base de datos pública, gratuita y de acceso universal, la cual se encuentra disponible dentro del repositorio de PhysioNet [9]. Concretamente, se ha elegido la base de datos Physionet/Challenge 2017 debido a varios motivos. Por un lado, contiene un conjunto de señales de ECG de una sola derivación adquiridas mediante un dispositivo moderno de monitorización cardíaca. Por otro lado, aunque esta base de datos no fue confeccionada específicamente para evaluar la calidad de la señal de ECG, refleja el criterio de varios expertos para discernir entre señales de suficiente e insuficiente calidad para identificar el ritmo del paciente. De hecho, los registros de ECG se dividen en cuatro grupos: (1) ritmo sinusal normal, (2) fibrilación auricular, (3) otros ritmos, y (4) ruido, de manera que los tres primeros se pueden considerar de calidad aceptable y el último de no aceptable para su interpretación clínica. Precisamente, se consideró esta agrupación de señales para obtener las dos clases empleadas en la validación del método propuesto.

Otra característica interesante de esta base de datos es que presenta una gran cantidad de intervalos de ECG divididos en dos conjuntos, uno destinado a entrenamiento y otro a validación, tal como muestra la Tabla 1. También se puede observar que todos ellos presentan una duración diferente, aunque cercana a los 30 segundos. Así pues, para trabajar con señales de la misma duración y además acotar lo más precisamente posible los tramos de baja calidad, todas los registros se segmentaron en intervalos de 10 segundos, disponiéndose finalmente de 25.834 tramos de calidad aceptable y 506 de calidad inaceptable para entrenamiento, y 831 y 83 para validación, respectivamente.

Ritmo	Entrenamiento	Validación	Duración media
Normal	5154	148	31.9 s
FA	771	47	31.6 s
Otros ritmos	2557	65	34.1 s
Ruidos	279	40	27.1 s
Total	8761	300	32.5 s

Tabla 1. Número y duración media de los registros encontrados en la base de datos PhysioNet/Challenge 2017, de acuerdo al ritmo que presentan y al conjunto de validación y entrenamiento en el que se ubican.



Figura 1. Diagrama de flujo del método propuesto para discernir entre intervalos de ECG de alta y baja calidad.

2.2. Evaluación de la calidad del ECG

El método propuesto para discernir entre tramos de ECG de alta y baja calidad consta de tres etapas, tal como muestra la Figura 1. En la primera, el intervalo de ECG es preprocesado mediante el uso de herramientas clásicas para eliminar la mayor cantidad de ruido posible y, así, facilitar su posterior clasificación. Más precisamente, se elimina la deriva de la línea base mediante su estimación y sustracción por el algoritmo propuesto por Meyer *et. al.* [10], así como las interferencias de la red eléctrica y de alta frecuencia mediante un método basado en la transformada Wavelet estacionaria [11].

En el siguiente paso se transforma la señal a una imagen en dos dimensiones y tres canales de color. Este proceso se basa en la transformada Wavelet continua (TWC), la cual se aplica mediante un banco de filtros con anchos de banda prefijados para su adaptación a la señal de ECG [12]. A la imagen resultante se le conoce como escalograma y representa el valor absoluto de la TWC en función del tiempo y de la frecuencia, empleando en este último caso una escala logarítmica. Se ha utilizado esta transformación debido a que permite la detección de las escalas (o frecuencias) más representativas de una señal, es decir, las escalas que más contribuyen a la energía total de la señal [13]. A modo de ejemplo, en la Figura 2 se muestra la diferencia que existen entre el escalograma obtenido para dos tramos de ECG típicos de alta y baja calidad, respectivamente. Como se puede observar, el escalograma del tramo de ECG sin ruido presenta un patrón que se repite a lo largo de la imagen, mientras que en el otro caso se observa una imagen aleatoria sin ningún patrón concreto.

Finalmente, en la última etapa se emplea una red neuronal denominada AlexNet para discernir entre los tramos de ECG de alta y baja calidad. Aunque hoy en día existe una gran variedad de redes neuronales convolucionales [14], se ha optado por AlexNet debido a que se encuentra preentrenada, permitiendo así una reducción muy grande del tiempo computacional que se requiere para su entrenamiento. Esta característica también es esencial en el contexto en el



Figura 2. Ejemplo de ECG típico de alta (arriba) y baja (abajo) calidad. Se representa la señal junto con el escalograma obtenido mediante la TWC.

que se desarrolla el trabajo, ya que la base de datos analizada no permite entrenar adecuadamente desde cero una red neuronal. Cabe destacar que el uso de redes preentrenadas en tareas conceptualmente similares es una práctica muy habitual en la actualidad y se denomina *aprendizaje de transferencia* [15]. No obstante, en este caso fue necesaria una modificación de la arquitectura de la red para su adecuación al problema planteado. Así pues, las capas que componían la arquitectura original, definidas para la detección de 1000 objetos cotidianos [16], se adaptaron para discernir únicamente registros de ECG de dos clases.

3. Resultados

Ante el enorme desequilibrio en el número de tramos de ECG de alta y baja calidad en el conjunto de entrenamiento que se ha descrito en la Sección 2.1, para alcanzar una validación lo más robusta e insesgada posible del método propuesto se seleccionaron 10 grupos estratificados con una proporción similar de ambos tipos de señales. Más precisamente, todos ellos estuvieron formados por 500 de los 506 intervalos de ECG de baja calidad disponibes, así como por otros 500 intervalos de alta calidad elegidos aleatoriamente entre los 25.834 existentes. Cabe mencionar que ningún tramo de ECG de alta calidad se repitió en ninguno de estos grupos.

A continuación, el método propuesto se sometió a 10 ciclos de entrenamiento, empleándose en cada caso un grupo diferente. Además, el clasificador resultante en cada iteración se validó a través del conjunto de registros de validación descrito en la Sección 2.1, obteniéndose la sensibilidad, la especificidad y la exactitud de la clasificación alcanzada. En este contexto, la sensibilidad se definió como la proporción de intervalos de ECG de baja calidad clasificados correctamente, la especificidad como la tasa de intervalos de ECG de alta calidad identificados adecuadamente, y la exactitud como el porcentaje total de tramos

Iteración	Sen.	Esp.	Exactitud	Tiempo (s)
Grupo #1	1	0.964	0.967	17.48
Grupo #2	1	0.912	0.920	17.22
Grupo #3	1	0.908	0.917	16.80
Grupo #4	1	0.924	0.931	17.57
Grupo #5	1	0.899	0.908	18.01
Grupo #6	1	0.882	0.893	18.06
Grupo #7	1	0.877	0.888	17.87
Grupo #8	1	0.876	0.887	16.92
Grupo #9	1	0.911	0.919	16.38
Grupo #10	1	0.876	0.887	16.60
Promedio	1	0.903	0.912	17.29

Tabla 2. Resultados de la validación del método propuesto una vez entrenado con los 10 grupos de validación seleccionados. Además, de la sensibilidad (Sen), especificidad (Esp) y la exactitud en la clasificación, también se incluye el tiempo de entrenamiento en cada proceso.

de ECG discernidos apropiadamente [17]. Los valores obtenidos para cada proceso de entrenamiento, así como el promedio para todos ellos, se muestran en la Tabla 2. Como se puede observar la sensibilidad fue del 100 % en todos los casos, y la especificidad estuvo mayoritariamente alrededor del 90 %.

Finalmente, cabe indicar que la Tabla 2 también presenta el tiempo empleado por el método en clasificar las señales incluidas en el conjunto de validación. Se puede observar que siempre estuvo entre 16 y 18 segundos, ejecutándose en un ordenador con Windows 10, un procesador Intel i7 a 3.40 GHz y 16 GB de memoria RAM.

4. Discusión

Este trabajo presenta un método capaz de discernir entre intervalos de ECG de una sola derivación de alta y baja calidad con una exactitud bastante elevada de alrededor del 90 %. Además, también es capaz de identificar el 100 % de los intervalos de baja calidad, de forma que todos ellos se podrían rechazar, evitando así la posibilidad de interpretar alguno de ellos erróneamente. Por el contrario, el método presenta una capacidad ligeramente inferior para identificar correctamente los tramos de alta calidad. De hecho, está descartando aproximadamente el 10% de estos intervalos al considerarlos como excesivamente ruidosos. Se trata de una pequeña limitación que se pretende corregir en una versión más avanzada del método, sin embargo, en el contexto planteado de registros de larga duración no impediría la posibilidad de mejorar el diagnóstico y el seguimiento de pacientes a muy largo plazo, ya que todavía se dispondría de mucha información para analizar.

Comparados con otros métodos propuestos para el mismo propósito, cabe indicar que los resultados obtenidos son bastante similares. De hecho, Satija *et al.* han desarrollado un método basado en árboles de decisión, el cual ha obtenido una exactitud global del 89 % [18]. No obstante, se debe señalar que este método trabaja con las 12 derivaciones estándar del ECG y, además, no se ha validado en un contexto totalmente realista, ya que los intervalos de baja calidad se han generado añadiendo ruido sintético a registros obtenidos de *PhysioNet*. Por su parte, Zhao *et* *al.* han propuesto un método muy similar al aquí descrito, pero tomando de partida el registro de ECG de 12 derivaciones [5]. A pesar de disponer de mucha más información que en el contexto de una única derivación, el método solo ha alcanzado una exactitud del 87 %.

Otra diferencia importante con los trabajos previos que se acaban de mencionar, es que el método propuesto se ha validado considerando un entorno más realista. De hecho, además de intervalos de ritmo sinusal normal, se han considerado tramos de ECG con alteraciones del ritmo cardíaco que son habituales en la enfermedades que requieren de una monitorización a muy largo plazo [19]. Además, aunque se debe realizar un análisis más profundo, la presencia de estos tramos de fibrilación auricular y otros ritmos no son los responsables de la baja especificidad obtenida con el algoritmo. De hecho, entre los tramos de alta calidad descartados como ruidos se encontró aproximadamente la misma proporción de los tres tipos de tramos de ECG (ritmo sinusal, fibrilación auricular y otros ritmos).

Finalmente, es interesante mencionar que aunque el tiempo de registro equivalente para los tramos que conforman el conjunto de validación es de aproximadamente 150 minutos, el método solo tardaba aproximadamente 17 segundos en procesarlo. Esta observación sugiere, por tanto, que se podría implementar en dispositivos vestibles para trabajar en tiempo real, ofreciendo la posibilidad de registrar y procesar solo los tramos de calidad suficiente para liberar recursos y minimizar el consumo de energía y memoria.

5. Conclusiones

Se ha propuesto por primera vez en la literatura científica un método capaz de discernir entre intervalos de alta y baja calidad en registros de ECG de una sola derivación y larga duración. A pesar de utilizar mucha menos información, su exactitud es comparable a la de otros métodos previos, ofreciendo además la posibilidad de trabajar en tiempo real. No obstante, el algoritmo presenta una especificidad ligeramente inferior a la sensibilidad, por lo que tendrá que ser mejorado en futuras versiones.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos de investigación competitiva DPI2017-83952-C3 de MINECO-AEI-FEDER-UE, SBPLY/17/180501/000411 de la JCCLM y AICO/2019/036 de la GVA.

Referencias

- Singh BN, Tiwari AK. Optimal selection of wavelet basis function applied to ECG signal denoising. Digital Signal Processing 2006;16(3):275 – 287. ISSN 1051-2004.
- [2] Townsend N, Nichols M, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in europe—epidemiological update 2015. European Heart Journal 2015;36(40):2696–2705.
- [3] Mishra B, Arora N, Vora Y. Wearable ECG for real time complex P-QRS-T detection and classification of various arrhythmias. In 2019 11th International Conference on Communication Systems & Networks (COMSNETS).

IEEE, 2019; 870–875.

- [4] Nagai S, Anzai D, Wang J. Motion artefact removals for wearable ECG using stationary wavelet transform. Healthcare Technology Letters 2017;4(4):138–141. ISSN 2053-3713 (Print) 2053-3713.
- [5] Zhao Z, Liu C, Li Y, Li Y, Wang J, Lin BS, Li J. Noise rejection for wearable ECGs using modified frequency slice wavelet transform and convolutional neural networks. IEEE Access 2019;7:34060–34067.
- [6] Satija U, Ramkumar B, Manikandan MS. A review of signal processing techniques for electrocardiogram signal quality assessment. IEEE Reviews in Biomedical Engineering 2018;11:36–52.
- [7] Faust O, Hagiwara Y, Hong TJ, Lih OS, Acharya UR. Deep learning for healthcare applications based on physiological signals: A review. Computer Methods and Programs in Biomedicine 2018;161:1–13.
- [8] Jambukia SH, Dabhi VK, Prajapati HB. Classification of ECG signals using machine learning techniques: A survey. In 2015 International Conference on Advances in Computer Engineering and Applications. IEEE, 2015; 714–721.
- [9] Goldberger A, Amaral L, Glass L, Hausdorff J, Ivanov P, Mark R, Mietus J, Moody G, Peng C, Stanley H. Physiobank, physiotoolkit, and physionet: Components of a new research resource for complex physiologic signals. Circulation 2000;101(23):e215–e220.
- [10] Meyer C, Keiser H. Electrocardiogram baseline noise estimation and removal using cubic splines and state-space computation techniques. Computers and Biomedical Research 1977;10(5):459–470.
- [11] García M, Martínez-Iniesta M, Ródenas J, Rieta JJ, Alcaraz R. A novel wavelet-based filtering strategy to remove powerline interference from electrocardiograms with atrial fibrillation. Physiological Measurement 2018; 39(11):115006.
- [12] Shoeb A, Cliord G. Chapter 16: Wavelets; multiscale activity in physiological signals. Biomedical Signal and Image Processing Springer New York NY USA 2005;.
- [13] Bolós VJ, Benítez R. The wavelet scalogram in the study of time series. In Advances in Differential Equations and Applications. Springer, 2014; 147–154.
- [14] Cheplygina V, de Bruijne M, Pluim JP. Not-so-supervised: a survey of semi-supervised, multi-instance, and transfer learning in medical image analysis. Medical Image Analysis 2019;54:280–296.
- [15] Hwang S, Kim HE. Self-transfer learning for weakly supervised lesion localization. In International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention. Springer, 2016; 239–246.
- [16] Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton GE. Imagenet classification with deep convolutional neural networks. In Advances in Neural Information Processing Systems. 2012; 1097– 1105.
- [17] Zhu W, Zeng N, Wang N, et al. Sensitivity, specificity, accuracy, associated confidence interval and ROC analysis with practical SAS implementations. NESUG Proceedings Health Care and Life Sciences Baltimore Maryland 2010; 19:67.
- [18] Satija U, Ramkumar B, Manikandan MS. A simple method for detection and classification of ECG noises for wearable ECG monitoring devices. In 2015 2nd International Conference on Signal Processing and Integrated Networks (SPIN). 2015; 164–169.
- [19] Lake DE, Moorman JR. Accurate estimation of entropy in very short physiological time series: the problem of atrial fibrillation detection in implanted ventricular devices. American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology 2010;300(1):H319–H325.
Optimización de la Recurrencia de la Duración de los Ciclos Respiratorio y Cardíaco para Caracterizar Pacientes en Proceso de Extubación

Beatriz F. Giraldo¹, Pau Garriga², Iván Diaz³, Salvador Benito³

¹ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC-BIST),Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Dept. ESAII, EEBE, Barcelona, España; <u>beatriz.giraldo@upc.edu</u>

² Ingeniería de Telecomunicaciones, UPC, Barcelona, España

³ Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

Resumen

El momento óptimo de extubación de pacientes asistidos mediante ventilación mecánica continúa siendo un desafío en la práctica clínica. Técnicas no lineales como la cuantificación de la recurrencia (RQA) podrían contribuir al análisis de la complejidad de los sistemas cardíaco y respiratorio en estos pacientes. En este trabajo se propone evaluar el comportamiento de la recurrencia (RP) y sus interacciones conjuntas, para la clasificación de pacientes en proceso de extubación. De las señales de flujo respiratorio y ECG, se obtuvieron las series temporales de la duración de los ciclos respiratorio (T_{Tot}) y cardíaco (RR). Se analizaron 131 pacientes clasificados en grupo éxito (GS = 92, extubación exitosa), y grupo fracaso (GF = 39, extubación fallida). A partir de la matriz de recurrencia, la optimización de los parámetros de RQA se analizó en función del determinismo, la entropía y la laminaridad. Los valores óptimos de tiempo de retardo (τ) y de embedding dimension (m) se obtuvieron en función de la longitud de las estructuras diagonales y verticales de esas recurrencias. Los mejores resultados se obtuvieron con m = 3 y m = 6, para $\tau = 1$. En el análisis de la RP entre las series T_{Tot} y la variabilidad del ritmo cardíaco (HRV), los mejores umbrales para la recurrencia fueron obtenidos con $\varepsilon_{TTot} = 0.19$ y $\varepsilon_{HRV} = 2.05$. La clasificación de los pacientes (éxito versus fracaso) se realizó mediante máquinas de soporte vectorial, con un 83% de precisión.

1. Introducción

La ventilación mecánica es el tratamiento utilizado para insuficiencia respiratoria aguda. Alrededor del 50% de los pacientes en unidades de cuidados intensivos requieren este tratamiento [1]. La retirada de la ventilación mecánica debe realizarse tan pronto como sea posible mantener la respiración espontánea. Tanto la demora innecesaria como el destete prematuro pueden tener efectos adversos para el paciente, prolongando su tiempo con ventilación mecánica y su ingreso en la unidad de cuidados intensivos [2, 3]. Diferentes estudios están orientados a identificar variables fisiológicas que ayuden a determinar el momento óptimo de extubación de estos pacientes, reduciendo el tiempo de ventilación mecánica, y posibles factores de riesgo para el paciente en el fracaso de destete [4, 5].

Diferentes técnicas no lineales han sido aplicadas para el análisis de los sistemas respiratorio y cardíaco y su acoplamiento [6-8]. La recurrencia es una propiedad fundamental de los sistemas dinámicos, que puede utilizarse para caracterizar el comportamiento de este sistema en un espacio de fases. El método *recurrence plot* (RP) permite analizar el comportamiento de trayectorias de los sistemas dinámicos en un nuevo espacio de fases, a partir de variables que describen el comportamiento del sistema global. La representación gráfica se basa en una matriz cuadrada simétrica binaria que codifica los tiempos en que dos estados están muy cerca [9]. La caracterización de estas matrices permite determinar el nivel de recurrencia del sistema y su interacción. El análisis de cuantificación de recurrencia (RQA) permite definir sistemáticamente, las diferentes estructuras encontradas en RP [10, 11].

Trabajos previos presentaron una primera aproximación de la cuantificación de la densidad de puntos de recurrencia y los umbrales de distancia, aplicados a la duración del ciclo respiratorio y la variabilidad del ritmo cardíaco, para clasificar a pacientes con éxito en el proceso de extubación versus pacientes que fracasaron [12]. En este estudio, se propone la optimización de la cuantificación de la recurrencia en función del determinismo, la entropía y la laminaridad de las estructuras diagonales y verticales, presentadas en la matriz de recurrencia. A partir de estos resultados, se propone la clasificación de los pacientes (éxito versus fracaso), utilizando las máquinas de soporte vectorial.

2. Datos analizados

Se analizaron las señales de flujo respiratorio (FLW) y electrocardiográficas (ECG) de 131 pacientes asistidos mediante ventilación mecánica y sometidos al proceso de extubación, de la base de datos WEANDB, detallada en [12, 13]. Las señales se registraron simultáneamente, a una frecuencia de muestreo de 250 Hz, durante 30 minutos.

Para la desconexión de la ventilación mecánica, los pacientes fueron sometidos a la prueba de tubo en T, manteniendo la respiración espontánea a través de un tubo endotraqueal, durante 30 minutos. De acuerdo con los resultados obtenidos, 131 pacientes superaron con éxito la prueba de destete (GS: 60 hombres, 32 mujeres, 65 ± 17 años), mientras que 39 pacientes no pudieron mantener la respiración espontánea, siendo reconectados al ventilador mecánico (GF: 24 hombres, 15 mujeres, edad 67 ± 15 años).

3. Metodología

3.1. Pre-procesado de las señales

Las señales de FLW y ECG fueron pre-procesadas para reducir los artefactos. Las series temporales que representan la duración del ciclo respiratorio (T_{Tot}) y la duración del ciclo cardíaco (RR) fueron extraídas, a partir de algoritmos relacionados con cruces por cero y detección de máximos y mínimos. Los latidos ectópicos fueron identificados y eliminados, utilizando un algoritmo basado en la estimación de la varianza local. La señal correspondiente a la variabilidad del ritmo cardíaco (HRV) se obtuvo a partir de la desviación estándar de las series RR (SDNN) considerando una ventana móvil de 10 latidos. Finalmente, las señales T_{Tot} y HRV fueron remuestreadas a 1Hz, utilizando la función *cubic spline*, y normalizadas.

3.2. Método recurrence plot

El método *recurrence plot* (*RP*) permite representar la recurrencia de un sistema a partir de su serie de datos [9]. Considerando una serie de tiempo $x_1(t), x_2(t), ..., x_N(t)$, generada por un sistema dinámico, es posible obtener información del sistema completo, generando un espacio multidimensional, denominado espacio reconstruido o pseudo espacio de fases. Las trayectorias en este espacio tienen las mismas propiedades geométricas y dinámicas que las trayectorias del sistema dinámico completo. Para la construcción del espacio de fases, se generan nuevos vectores (*m*-dimensión) con coordenadas correspondientes a los valores de la serie original (*n*-dimensión) y sus consiguientes retardos (τ), representado por

$$x_i^m = (x_i, x_{i+\tau}, x_{i+2\tau}, \dots, x_{i+(m-1)\tau})$$

Si la dimensión del nuevo espacio de fases es $m \ge 2\tau + 1$, una sola variable de salida es suficiente para recrear completamente la dinámica del sistema subyacente. Por lo tanto, ambos parámetros, la dimensión m y el retardo τ , deben seleccionarse adecuadamente.

La matriz de recurrencia (RM) está definida por los valores del espacio de fase, teniendo en cuenta el retardo definido, de acuerdo con

$$RM_{i,j} = \Theta\left(\varepsilon^{\vec{x}} - \|\vec{x}_i - \vec{x}_j\|\right), \quad \vec{x}_i \in R^m, \quad i, j = 1 \dots N,$$

siendo *N* los estados considerados, ε el umbral de la distancia entre estados, $\|\cdot\|$ la norma euclidiana y $\Theta(\cdot)$ la función de Heaviside [11]. Si los vectores de dos fases x_i y x_j están suficientemente próximos, $RM_{i,j} = 1$, en caso contrario, $RM_{i,j} = 0$

El *RP* se obtiene trazando la matriz *RM*; si la distancia entre x_i y x_j es menor que ε , se representa con un punto en la posición (*i*, *j*). La correcta definición de una recurrencia dependerá de la selección del valor umbral ε . Valores pequeños de ε son más sensibles a los efectos del ruido, mientras que valores muy grandes producen un alto índice de falsos positivos en la detección de la recurrencia. Una propuesta es definir un determinado número de vecinos más cercanos para cada punto de la trayectoria (*fan*) [14].

3.3. Joint recurrence plot

La recurrencia conjunta (*JRP*) permite analizar la interacción entre dos series de tiempo [9]. La matriz de recurrencia conjunta (*JRM*) se obtiene a partir de la *RM* para cada señal, definida por

$$JRM_{i,j}^{\vec{x},\vec{y}}(\varepsilon^{\vec{x}},\varepsilon^{\vec{y}}) = \Theta(\varepsilon^{\vec{x}} - \|\vec{x}_i - \vec{x}_j\|) \Theta(\varepsilon^{\vec{y}} - \|\vec{y}_i - \vec{y}_j\|)$$

$$\vec{x}_{i}, \vec{y}_i \in R^m, \ i, j = 1 \dots N.$$

Para cada sistema se considera un valor umbral diferente de acuerdo con cada serie de tiempo.

3.4. Análisis de cuantificación de la recurrencia

El análisis de cuantificación de recurrencia (*RQA*) permite medir diferentes estructuras presentes en el *RM* como [9]:

- *Tasa de recurrencia (rr)* es una medida de la densidad de los puntos RP y representa los vecinos más cercanos, dada por $rr = \frac{1}{N^2} \sum_{i,j=1}^{N} R_{i,j}^{m,\varepsilon}$. - *Determinismo (DET)* es la relación de puntos de
- Determinismo (DET) es la relación de puntos de recurrencia que forman una estructura diagonal, siendo P(l) el histograma de la longitud de las líneas diagonales, $DET = \frac{\sum_{l=1}^{N} l P(l)}{\sum_{l=1}^{N} l P(l)}$.
- Promedio de estructuras diagonales (L) representa la proximidad entre trayectorias de segmentos en diferentes momentos, $L = \frac{\sum_{l=l_{min}}^{N} l^{P}(l)}{\sum_{l=l_{min}}^{N} P(l)}$.
- Longitud máxima (mínima) de las estructuras diagonales (Lmax, Lmin) o su inversa, y la divergencia (DIV), dada por

$$\begin{split} & L_{max} = max(\{l_i; i = 1 \dots N_l\}); \quad DIV_{max} = \frac{1}{L_{max}}, \\ & L_{min} = min(\{l_i; i = 1 \dots N_l\}); \quad DIV_{min} = \frac{1}{L_{min}} \;. \end{split}$$

 Entropía de Shannon (ENTR) es calculada en función del histograma de las líneas diagonales, como la probabilidad p(l) de obtener una diagonal de longitud l, dada por

$$ENTR = -\sum_{l=l_{min}}^{N} p(l) \ln p(l), \text{ siendo } p(l) = \frac{P(l)}{\sum_{l=l_{min}}^{N} P(l)}.$$

- Laminaridad (LAM) es análoga a DET, aplicado a las líneas verticales, $LAM = \frac{\sum_{\nu=\nu_{min}}^{N} \nu^{P(\nu)}}{\sum_{\nu=1}^{N} \nu^{P(\nu)}}$.
- *Tiempo de captura (TT)*, se corresponde con la longitud promedio de las líneas verticales, y determina el tiempo promedio del sistema en un estado específico, definido por $TT = \frac{\sum_{\nu=\nu_{min}}^{N} \nu^{P(\nu)}}{\sum_{\nu=\nu_{min}}^{N} P(\nu)}$.
- $M\acute{a}xima (mínima) longitud de las estructuras verticales (<math>V_{max}$, V_{min}), definida por $V_{max} = max(\{v; i = 1 ..., N_l\})$; $V_{min} = min(\{v; i = 1 ..., N_l\})$.

4. Resultados

La figura 1 presenta un ejemplo de la RM de una serie de tiempo respiratoria. Para optimizar el tiempo de retardo τ y el número de vecinos más cercanos *fan*, se evaluaron los parámetros *DET*, *ENTR* y *LAM* en diferentes condiciones (Figura 2).



Figura 1. Matriz de recurrencia (RM) de la duración del ciclo respiratorio de un paciente, con $m = 6 y \tau = 1$

De acuerdo con los resultados, se observa que *DET* y *LAM*, disminuyen cuando aumenta *lmin* (diagonales más cortas), comportamiento asociado con la componente aleatoria de las señales. En consecuencia, un menor porcentaje de *fan*, representa menor determinismo de las señales debido a un menor número de diagonales. El análisis de *ENTR* presenta un comportamiento relativamente estable para valores pequeños de *lmin*, representando posiciones equidistantes entre las diagonales.

La Tabla 1 presenta los mejores resultados obtenidos al evaluar diferentes longitudes de estructuras diagonales y verticales.

	$\tau = 1$	$\tau = 10$	$\tau = 50$	$\tau = 100$		
		Ln	nean			
<i>m</i> = 3	2.11	1.31	1.27	1.29		
<i>m</i> = 6	3.16	1.44	1.39	1.57		
		Li	nax			
<i>m</i> = 3	17	13	7	7		
<i>m</i> = 6	31	29	10	12		
		Vmean				
<i>m</i> = 3	1.66	1.59	1.53	1.56		
<i>m</i> = 6	2.16	1.86	1.77	2.02		
	Vmax					
<i>m</i> = 3	20	23	17	11		
<i>m</i> = 6	39	25	19	11		

Tabla 1. Evaluación de la longitud de estructuras diagonales y
verticales para diferentes valores de m y τ

La recurrencia conjunta entre las señales T_{Tot} y HRV se evaluó considerando diferentes valores de ε , en términos de precisión (Tabla 2).

Umbral	Precisión (%)	Umbral	Precisión (%)
$\varepsilon_{Ttot} = 0.3$	80	$\varepsilon_{Ttot} = 0.13$	83
$\varepsilon_{HRV} = 0.01$	00	$\varepsilon_{HRV} = 0.26$	00
$\varepsilon_{Ttot} = 0.5$	80	$\varepsilon_{Ttot} = 0.15$	82
$\mathcal{E}_{HRV} = 0.02$	00	$\varepsilon_{HRV} = 0.51$	02
$\varepsilon_{Ttot} = 0.7$	80	$\varepsilon_{Ttot} = 0.17$	83
$\varepsilon_{HRV} = 0.03$	00	$\varepsilon_{HRV} = 1.02$	05
$\mathcal{E}_{Ttot} = 0.9$	81	<i>E Ttot</i> = 0.19	83
$\varepsilon_{HRV} = 0.06$	01	$\varepsilon_{HRV} = 2.05$	85
$\varepsilon_{Ttot} = 0.11$	83		
$\mathcal{E}_{HRV} = 0.13$	05		

Tabla 2. Porcentajes de precisión para diferentes umbrales deε al analizar la recurrencia conjunta

Las figuras 3 y 4 presentan un ejemplo de la evolución del tiempo *RQA* aplicada a *JRM* para las señales T_{Tot} y HRV, en un paciente del grupo éxito y un paciente del grupo fracaso, respectivamente. Los parámetros seleccionados fueron: m = 3, $\tau = 1$, $\varepsilon_{Ttot} = 0.19$, $\varepsilon_{HRV} = 2.05$, *lmin* = 5, *Vmin* = 5.



Figura 3. Evolución temporal de RQA para las señales $T_{Tot} y$ HRV normalizadas, aplicado a JRM con parámetros: m = 3, $\tau = 1$, $\varepsilon_{Ttot} = 0.19$, $\varepsilon_{HRV} = 2.05$, lmin = 5, Vmin = 5, para un paciente del grupo GS



Figura 2.a) Determinismo, b) entropía y c) laminaridad en función de lmin y vmin, al comparar diferentes condiciones de tiempo de retardo y diferentes números de vecinos más cercanos



Figura 4. Evolución temporal de RQA para las señales $T_{Tot} y$ HRV normalizadas, aplicado a JRM con parámetros: m = 3, $\tau = 1$, $\varepsilon_{Ttot} = 0.19$, $\varepsilon_{HRV} = 2.05$, lmin = 5, Vmin = 5, para un paciente del grupo GF

Finalmente, al clasificar los pacientes con estos parámetros, se obtuvo una precisión del 83%, aplicando las máquinas de soporte vectorial.

5. Discusión

La complejidad para comprender la respuesta de los sistemas fisiológicos como el cardíaco y respiratorio, y su interacción cardiorrespiratoria, hacen necesario introducir nuevas técnicas para su evaluación. El método *recurrence plot* introduce nuevos parámetros para este análisis. La optimización del tiempo de retardo y *m*-dimensión son esenciales para un buen rendimiento del método. En este trabajo se ha presentado un análisis detallado de la selección de estos parámetros.

De acuerdo con los resultados, parámetros como el determinismo, la laminaridad y la entropía han demostrado una buena capacidad para discriminar entre la información aportada por los sistemas y su ruido. Al comparar diferentes tiempos de retardo y *m*-dimensión, la longitud de los parámetros relacionados con las estructuras diagonales y verticales disminuyen en la medida en que se incrementa el tiempo de retardo, pero siendo más elevados para valores mayores de *m*-dimensión. La selección de los mejores umbrales de distancia entre diferentes estructuras permite optimizar la clasificación de los pacientes analizados.

6. Conclusión

Métodos no lineales como los relacionados con la recurrencia, son útiles para mejorar el conocimiento del proceso de extubación, debido a su capacidad para describir el comportamiento de los sistemas en otro espacio de fases. La posibilidad de parametrizar la evolución temporal de sus trayectorias permite introducir información en la dinámica de sus sistemas. Sin embargo, se necesitan más estudios para consolidar estas conclusiones.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el programa CERCA, la Secretaría de Universidades e Investigación del Departamento de Economía y Conocimiento de la Generalitat de Catalunya (GRC 2017 SGR 1770), y por el Ministerio de Economía y Competitividad de España (DPI2015-68820-R MINECO/FEDER).

Referencias

- M. J.F. and J. Kress, "Weaning patients from the ventilator," The new England Journal of Medicine, vol. 67, pp. 2233–9, 2012.
- [2] M J Tobin, "Advances in mechanical ventilation", New Engl. J. Med. 344 1986–96,2001.
- [3] Casaseca, J. P., Martin-Fernandez, M., and Alberola-Lopez, C. (2006). Weaning from mechanical ventilation: a multimodal signal analysis. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 53(7):1330–1345.
- [4] McConville, J. F. and Kress, J. P. (2012). Weaning Patients from the Ventilator. New England Journal of Medicine, 367(23):2233–2239.
- [5] Esteban, A., Frutos-Vivar, F., Muriel, A., Ferguson, N. D., Penuelas, O., et al. (2013). Evolution of mortality over time in patients receiving mechanical ventilation. Am J Respir Crit Care Med, 188(2): 220230.
- [6] P. Caminal, B.F. Giraldo, M. Vallverdú, S. Benito, R. Schroeder and A. Voss, "Symbolic Dynamic Analysis of Relations Between Cardiac and Breathing Cycles in Patients on Weaning Trials", Annals of Biomedical Engineering, Vol. 38, No. 8, August 2010, pp. 2542–2552. DOI: 10.1007/s10439-010-0027-1.
- [7] P. Ataee, L. Belingard, G. a. Dumont, H. a. Noubari, and W. T. Boyce, "Autonomic-cardiorespiratory regulation: a physiology-based mathematical model", in 34th Annual International Conference of the IEEE EMBS, vol. 2012, (San Diego, California USA), pp. 3805–8, Jan. 2012.
- [8] A. Arcentales, P Caminal, I Diaz, S Benito and B F Giraldo. "Classification of patients undergoing weaning from mechanical ventilation using the coherence between heart rate variability and respiratory flow signal". Physiol. Meas. 36 (2015) 1439–1452.
- [9] N. Marwan, J.F. Donges, Y. Zou, R.V. Donner, J. Kurths, "Complex Network Approach for Recurrence Analysis of Time Series", Physics Letters, Volume 373, Issue 46, Publisher: Elseiver B.V., Pages 23. DOI: 10.1016/j.physleta.2009.09.042.
- [10] P.I. Terrill, S. Wilson, S. Suresh, D.M. Cooper, "Developing robust recurrence plot analysis techniques for investigating infant respiratory patterns", 29th Annual International Conference of the IEEE-Engineering-in-Medicine-and-Biology-Society, Lyon, France 2007.
- [11] J.P. Zbilut, N. Thomasson and C. L. Webber, "Recurrence quantification analysis as a tool for nonlinear exploration of nonstationary cardiac signals," Med. Eng. Phys., vol. 24, pp. 53-60, JAN, 2002.
- [12] A. Arcentales, B.F. Giraldo, P. Caminal, S. Benito, A. Voss, (2011). "Recurrence Quantification Analysis of Heart Rate Variability and Respiratory Flow Series in Patients on Weaning Trials" 33rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Boston, USA.August 30 September 3,2011.pp. 2724 – 2726.
- [13] A. Arcentales, P Caminal, I Diaz, S Benito and B F Giraldo. "Classification of patients undergoing weaning from mechanical ventilation using the coherence between heart rate variability and respiratory flow signal". Physiol. Meas. 36 (2015) 1439–145.
- [14] Eckmann JP, Kamphorst SO, Ruelle D. Recurrence plots of dynamical systems. Europhys Lett. 1987;4:973–7.

Propuesta de mejora en la gestión de residuos hospitalarios

P. Prados Poveda¹, D. Ruiz Fernández², D. Marcos Jorquera², M. Lillo Crespo³

¹ Grupo IBIS, Universidad de Alicante, Alicante, España, pprados@ibisrg.com

² Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, Alicante, España,

{druiz, dmarcos}@dtic.ua.es

³ Hospital de Vistahermosa, Alicante, España, Manuel.lillo@grupohla.com

Resumen

El trabajo que se presenta se centra en desarrollar un sistema que permita la monitorización de la gestión interna de residuos peligrosos en un hospital. Con esto, se permite realizar un seguimiento directo de las variaciones en las cantidades de residuos que se generan en las diferentes áreas, la forma en que la gestión se lleva a cabo y la relación de todo ello con las cargas de trabajo y con los costes asociados. La herramienta desarrollada, basada en una arquitectura de servicios, usa códigos QR para reducir el error en la identificación de los depósitos de residuos y facilitar su seguimiento. La validación de la herramienta se ha realizado en un hospital que trabaja siguiendo la norma ISO:14001 de calidad medioambiental.

1. Introducción

Uno de los principales objetivos del sistema sanitario es lograr la máxima satisfacción del usuario, es decir, del paciente. Para lograr este objetivo de manera eficaz y eficiente, se trabaja un concepto más absoluto y objetivo como es la gestión de la calidad; en el sistema sanitario este objetivo solo puede llevarse a cabo bajo el enfoque de mejora continua de la calidad. Este enfoque incorpora numerosas perspectivas como la perspectiva clínica (asociada a los procedimientos clínicos), la perspectiva económica (asociada a los costes e ingresos económicos), etc. En este trabajo se aborda la mejora continua de la calidad desde una perspectiva medioambiental, concretamente en las actividades relacionadas con la gestión de residuos peligrosos en el ámbito hospitalario.

A nivel internacional, la calidad de las organizaciones se refleja en el seguimiento de normas internacionales como es el caso de la norma ISO 9001 [1], que proporciona la infraestructura, procedimientos, procesos y recursos necesarios para ayudar a las organizaciones a controlar y mejorar su rendimiento y conducirles hacia la eficiencia, servicio al cliente y excelencia en el producto. Cuando abordamos la gestión de calidad medioambiental es la norma ISO 14001 [2] la que establece herramientas y sistemas enfocados a los procesos de producción en el interior de las empresas y sobre cómo estos pueden afectar al medioambiente. El objetivo principal de esta norma, es proporcionar un lenguaje común para la gestión ambiental estableciendo un marco para la certificación de sistemas de gestión que ayude a satisfacer la demanda de los consumidores y agencias gubernamentales de una mayor responsabilidad ambiental.

En este trabajo se trata específicamente de mejorar el control que se realiza en la recogida de residuos de un centro hospitalario, incorporando herramientas tecnológicas para facilitar este control y reducir la posibilidad de errores. Llegado este punto es importante resaltar que este trabajo no se centra en el tratamiento de los residuos, que suele ser llevado a cabo por empresas subcontratadas especializadas en cada tipo de residuo, sino en la gestión y control durante su recogida en el propio centro hospitalario.

La gestión de los residuos es propia de cada centro hospitalario. Seguidamente se explica, a modo de introducción, la gestión que se realiza en el centro hospitalario que se ha tomado como referencia y en el cual se ha implementado nuestra propuesta. Aunque, como se ha comentado, esta gestión es propia de cada centro, suelen presentar numerosos aspectos en común, como la distribución de los residuos, que son marcados por las normas de calidad.

Según el tipo de residuos, estos se almacenan en contenedores con características distintas y diferenciados por colores. Por ejemplo, los residuos del grupo II, residuos sanitarios no peligrosos se almacenan en contenedores abiertos de color amarillo mientras que los residuos del grupo III, residuos infecciosos o punzantes, se almacenan en contenedores cerrados amarillos. En el hospital que ha servido de referencia para este proyecto, el operario de residuos junto con el personal de limpieza recoge los contenedores de cada área y se llevan a un almacén donde son clasificados para su recogida por la empresa subcontratada que se encarga del tratamiento de los residuos.

El control de los residuos, mientras permanecen en el hospital, es realizado por la persona responsable de calidad y para ello cuenta únicamente con la información que le proporciona en papel el operario de residuos sobre los residuos recogidos. Esta información es incorporada de forman manual a un fichero informático en el que se reflejan las diferentes áreas hospitalarias, los diferentes tipos de contenedores y la cantidad de contenedores recogidos.

La posibilidad de error en el proceso de gestión de la información de recogida de residuos es múltiple. En primer lugar la información se recoge de forma manual y a través de varias personas, lo que aumenta la posibilidad de errores de transcripción de los datos. La identificación de las áreas hospitalarias, así como de los contenedores depende directamente del operario de residuos o del personal de limpieza que varía con frecuencia y puede no estar familiarizado con las denominaciones de áreas y contenedores.

Por otro lado, no se dispone de datos relacionados con tiempos de recogida o recorridos realizados que pudieran facilitar información para mejorar el procedimiento.

2. Objetivos de la propuesta

El objetivo principal de este trabajo consiste en mejorar la gestión de residuos que se realiza en un centro hospitalario. Para ello se plantean dos objetivos secundarios principales: en primer lugar, reducir la posibilidad de errores debido al tratamiento de los datos de forma manual; en segundo lugar, obtener más datos sobre el proceso de recogida de los residuos de manera que esta información extra pueda ayudar al responsable de calidad a mejorar el proceso.

Para poder completar los dos objetivos secundarios se plantea el desarrollo de una herramienta informática que sirva de soporte en el proceso de recogida de residuos. Esta herramienta debe cumplir unos requerimientos mínimos asociados a los objetivos secundarios:

• Debe cubrir las necesidades del seguimiento en la recogida (realizado habitualmente por personal no cualificado) y las necesidades de gestión, realizada por el responsable de calidad.

- La herramienta debe ser sencilla de usar, especialmente el módulo de seguimiento en la recogida, ya que el personal que lo utilizará no será siempre el mismo y se debe evitar cualquier retraso en el aprendizaje de la herramienta.
- El acceso a la herramienta debe necesariamente hacerse a través de la identificación del usuario para poder realizar la trazabilidad de la recogida.
- El módulo encargado de la supervisión de la recogida de residuos debe permitir la movilidad del personal de recogida por lo que se plantea un subsistema móvil. Además, se descarta el desarrollo de una aplicación móvil porque exigiría bien proporcionar un móvil o Tablet al personal de recogida, bien que el personal de recogida se instalara en su propio móvil la aplicación correspondiente.
- La identificación de los contenedores en la recogida debe ser lo más automática posible, evitando de esta forma posibles errores humanos en la identificación y seguimiento de la recogida de residuos.
- Para mejorar la calidad del proceso actual es necesario recoger datos a partir de los cuales se puedan elaborar indicadores de calidad como los tiempos de recogida, la secuencia de los contenedores, la identificación de los operarios.
- Finalmente también es deseable que el coste de implantación del sistema sea el menor posible para facilitar la modificación del proceso actual de recogida de residuos. En este sentido vuelve a ser importante la sencillez de la herramienta para evitar un rechazo a su utilización por parte de los usuarios.



Figura 1. Modelo de la propuesta

3. Diseño de la solución

A la hora de diseñar la solución se ha planteado en primer lugar un modelo que refleja con un alto nivel de abstracción el sistema que se va a desarrollar para intentar cubrir los objetivos de la propuesta. En este modelo aparece la funcionalidad del sistema, así como los actores involucrados y las partes principales de la aplicación.

Seguidamente se presenta la arquitectura propuesta, indicando de forma más concreta la tecnología utilizada para dar soporte a las necesidades presentadas. La tecnología utilizada para incorporar automatización en la identificación de los depósitos se ha incorporado en el modelo por considerarla un aspecto fundamental del sistema.

Finalmente, como resultado del diseño, se presenta la implementación de la aplicación y se muestran algunas de las pantallas resultantes.

3.1. Modelo

El modelo refleja las dos funcionalidades principales del sistema, alineadas con los objetivos secundarios planteados. En primer lugar, el sistema debe facilitar el seguimiento y control de la recogida de residuos; para ello el operario de residuos debe introducir la información de recogida a través de la aplicación y esta introducción debería ser lo más automática posible para reducir la posibilidad de errores. En segundo lugar, se debe recopilar tanta información como sea posible sin entorpecer ni sobrecargar el proceso; es decir, la información extra que se incorpore se hará de forma automática y transparente al usuario.

Para lograr automatizar el proceso, la lectura de los contenedores que son recogidos debería ser automática. Tras evaluar las diferentes opciones, planteamos dos posibilidades. La primera opción era utilizar códigos QR para identificar los depósitos y facilitar el operario la lectura de estos códigos a través de una aplicación en el móvil; la segunda opción es utilizar etiquetas RFID para hacer la lectura también a través de una aplicación móvil. La elección se basó en criterios de coste y de usabilidad; la opción de usar códigos QR no introducía ningún coste añadido y, además, permitía que esta identificación pudiera ser utilizada en otros procedimientos que creara el hospital necesariamente relacionados con la calidad no medioambiental. El uso de tecnología QR condiciona el sistema desde el punto de vista del modelado y por eso se incorpora en el modelo a pesar de ser una tecnología.

Siguiendo el modelo que se refleja en la figura 1, se identifica cada zona o punto de recogida de residuos del centro con un código QR, el cual, además de identificar de forma única el punto de recogida, tiene información asociada del área del hospital en la que se encuentra y el tipo de residuos que se generan.

Una vez que se escanea el código, la información recopilada es almacenada en una base de datos, a la cual se puede acceder por parte de los responsables de medioambiente y dirección del hospital.



Figura 2. Arquitectura de la propuesta

3.2. Arquitectura

Una vez establecido el modelo, definiremos la arquitectura, es decir, se instancia el mismo especificando los elementos que lo componen y definiendo las funcionalidades de cada uno de ellos, además de su distribución en un escenario y sus relaciones.

Siguiendo el modelo funcional presentado, la aplicación constará de tres módulos principales. Dos de estos módulos ofrecerán la funcionalidad directa a los usuarios, tanto la lectura de la identificación (código QR) de los contenedores como el acceso a información detallada de gestión. El tercero será el encargado de almacenar y gestionar la información.

La comunicación entre los diferentes módulos se plantea realizarla a través de Internet. Se ha valorado el uso de una red local pero esto podría limitar el uso del sistema en un centro hospitalario que constara de varios edificios separados fisicamente. Por tanto, se considera el uso de Internet incorporando las medidas de seguridad que sean necesarias como podría ser la creación de una VPN para proteger las comunicaciones; hay que tener en cuenta también que, aunque se trata de un centro hospitalario, la información con la que se va a trabajar no está formada por datos clínicos ni información relativa a pacientes y, por lo tanto, no está regulada por la ley de protección de datos.

Se propone que los módulos de acceso a los usuarios sean a través de web. Esto proporciona varias ventajas alineadas con los objetivos; una de las principales ventajas es que los usuarios suelen estar acostumbrados a utilizar navegadores para acceder a Internet, lo cual facilita que estén familiarizados con el entorno del sistema y les pueda resultar más sencillo su uso. Otra de las ventajas es que al tratarse de una aplicación web, especialmente en el caso de la lectura de los códigos QR, no es necesario tener instalada una aplicación en el móvil (o Tablet) y, de esta forma, los usuarios pueden utilizar sus propios dispositivos (siempre que cuenten con el hardware mínimo para cubrir las necesidades de la aplicación).

La arquitectura propuesta es una arquitectura orientada a servicios (SOA) basada en servicios REST. Este enfoque basado en servicios permite la integración de todos los elementos con un acoplamiento débil entre ellos y aporta a la propuesta características fundamentales como la reutilización, la autonomía, la interoperabilidad y la ubicuidad.

En función de la arquitectura definida, el tercer módulo c de la misma está formado por el servidor que proporciona las diferentes funcionalidades, a través de servicios REST, a los módulos cliente. Este servidor también almacenará la base de datos para la cual se propone utilizar un gestor MySQL. Los servicios se ejecutarán sobre NodeJS y se definen servicios tanto de consulta como de creación, edición y borrado.

3.3. Implementación

Una vez definida la arquitectura se han implementado los diferentes módulos utilizando como lenguaje de programación Javascript. En el desarrollo de las interfaces de usuario se ha utilizado HTML y CSS, priorizando características de sencillez y usabilidad. En la figura 3 se muestra a modo de ejemplo la lectura de un código QR a través de la aplicación implementada.



Figura 3. Ejemplo de implementación de lectura del código QR

4. Conclusiones

La gestión de residuos hospitalarios es una actividad que, si bien no está directamente incluida en las actividades clínicas del hospital, si que está ligada a éstas a través de las normativas de calidad y la tipología de los residuos. Por ejemplo, una gestión deficiente puede provocar problemas en la recogida y eliminación de residuos peligroso que contengan muestras biológicas. Por tanto, la mejora continua de esta gestión es un objetivo importante en el ámbito de la gestión hospitalaria.

El sistema propuesto en este trabajo permite recudir las fuentes de error al automatizar la entrada de información y favorece el análisis de los procedimientos de recogida de residuos gracias a una mayor cantidad de información sobre estos procesos.

Referencias

- ISO 9001 Sistemas de Gestión de la Calidad. Normas ISO web: <u>https://www.normas-iso.com/iso-9001/</u> (Consultada: septiembre 2019).
- [2] ISO 14001 Sistema de Gestión del Medio Ambiente. Normas ISO website: <u>https://www.normas-iso.com/iso-14001/</u> (Consultada: septiembre 2019).

Medición automática y eficiente de CDR e ISNT en retinografías mediante morfología matemática y contornos activos

R. Verdú Monedero¹, J. Morales-Sánchez¹, R. Berenguer-Vidal², I. Sellés Navarro³, A. Palazón Cabanes³

¹ Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España {rafael.verdu, juan.morales}@upct.es

² Universidad Católica San Antonio, Murcia, España, rberenguer@ucam.edu

³ Hospital Universitario Reina Sofía, Murcia, España, inmasell@um.es, a.palazoncabanes@gmail.com

Resumen

El glaucoma es una enfermedad ocular que sin el tratamiento adecuado produce ceguera. Los signos clínicos que sugieren esta enfermedad en sus fases iniciales son los niveles elevados de presión intraocular y la alteración morfológica del nervio óptico con una relación entre el diámetro de la excavación papilar y del disco óptico anormalmente grande (relación copadisco, CDR) o la modificación de la relación del espesor del anillo neurorretiniano por sectores (inferior, superior, nasal y temporal -ISNT). Este artículo describe un método rápido y eficiente para medir de forma automática estos valores a partir de una retinografía. La detección robusta y segmentación del anillo neurorretiniano y de la excavación papilar se realiza mediante operadores de morfología matemática. Utilizando esta segmentación gruesa como inicialización, se realiza una segmentación fina con dos contornos activos paramétricos implementados en el dominio de la frecuencia, que permiten el cálculo automático de los valores clínicos de referencia para detectar de forma temprana esta enfermedad.

1. Introducción

El desarrollo de aplicaciones para la evaluación anatómica del nervio óptico en imágenes digitales representa una ayuda importante en la detección de neuropatías ópticas. Entre ellas, el glaucoma es indudablemente la enfermedad más prevalente. Sin el debido tratamiento, esta enfermedad ocular clínicamente silenciosa, puede conducir a un deterioro progresivo del campo visual causando finalmente ceguera total. Por este motivo, el desarrollo de técnicas para la detección temprana de glaucoma es crucial dado que ayuda a mantener la salud ocular y minimizar los costes sanitarios.

Se sabe que las alteraciones anatómicas oculares aparecen varios años antes que las lesiones irreversibles en el campo visual como consecuencia de la muerte de las células ganglionares de la retina [1]. Las exploraciones clínicas iniciales que indican la posible presencia de glaucoma son los niveles de presión intraocular y la apariencia del nervio óptico. En los casos sospechosos, el diagnóstico se debe confirmar con otra prueba complementaria como la evaluación de la capa de fibras de la retina o el estudio del campo visual.

Uno de los inconvenientes de establecer valores indiciarios referidos al nervio óptico en las primeras etapas de la enfermedad es la variabilidad en el tamaño y la apariencia de la papila en la población normal [2]. Algunos parámetros anatómicos de la papila pueden ser indicadores de la aparición de lesiones neuronales y utilizarse como índices de referencia en la detección temprana del glaucoma [3]. Este conjunto de indicadores incluye el análisis del tamaño y la forma del nervio óptico, la relación entre el tamaño de la excavación papilar y el anillo neurorretiniano, la configuración de la profundidad de la excavación, la posición de salida de los vasos papilares, la presencia de hemorragias peripapilares, el defecto del espesor de la capa de las fibras nerviosas peripapilares o la atrofia coriorretiniana, entre otras [4].

Como se explica en [2], el anillo neurorretiniano de los nervios ópticos normales medido en los extremos verticales y horizontales sigue una regla que establece que la anchura inferior del anillo (I) es la mayor, seguida de la superior (S), nasal (N), siendo la temporal (T) la más pequeña. Este patrón se conoce como la regla ISNT, que ha sido confirmada por otros autores [5]. Muchos estudios relacionan la violación de esta regla como una característica de los nervios con daño glaucomatoso. Sin embargo, la previsibilidad de esta regla mejora cuando se complementa con otras mediciones y exploraciones, como, por ejemplo, la relación entre la excavación y el disco óptico [6].

También se ha observado que la presencia de asimetrías en la excavación papilar entre ambos ojos es un factor indiciario de glaucoma [7]. No obstante, otros autores [8] no lo consideran útil como parámetro aislado para identificar a los pacientes que padecen glaucoma.

En los últimos años, el equipamiento médico ha evolucionado de forma que es capaz de proporcionar imágenes, así como un análisis cuantitativo de la papila, véase, e.g., la oftalmoscopia confocal de láser (tomografía retinal de Heildeberg, TRH) o la tomografía de coherencia óptica (OCT). Sin embargo, los estudios clínicos indican que es necesario más de un método de detección para obtener pruebas con alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico temprano de glaucoma [13]. Por otro lado, la asociación de más de una prueba de diagnóstico conlleva más tiempo de exploración, lo que compromete la utilidad y la eficacia de los programas de detección temprana en un gran grupo de población. Por esta razón, la investigación en métodos de análisis exhaustivo de la morfología del nervio óptico que permita la detección temprana de la enfermedad es una prioridad.

147

2. Método

Esta sección describe brevemente los pasos de la aproximación propuesta. Inicialmente, las imágenes adquiridas se preprocesan mejorando el rango dinámico y con una ligera corrección de la iluminación. En el segundo paso, tanto el disco óptico como la excavación se localizan automáticamente en la imagen mediante operaciones morfológicas. En el siguiente paso, se utilizan dos contornos activos para delinear con precisión el disco óptico y la excavación. Con estos contornos se calculan las medidas de CDR e ISNT, que son características importantes en el diagnóstico de glaucoma.

2.1. Adquisición y realce de imagen

Las imágenes del fondo de ojo han sido adquiridas por el Servicio de Oftalmología del *Hospital General Universitario Reina Sofía* (Murcia, España) por medio de una cámara retiniana no midriática *Topcon* TRC-NW400. En este trabajo se utiliza un conjunto preliminar de imágenes mientras se recopila la base de datos completa con ojos sanos y patológicos (neuropatía óptica glaucomatosa).

Estas imágenes en color (RGB y 8 bits/canal) están en formato DICOM, con un ángulo de imagen de 30° y una resolución de 1934×2576 píxeles. Dado que esta resolución es demasiado alta para el objetivo perseguido, las imágenes se han submuestreado a 600×800 píxeles antes del procesado (véase en Figura 1(a) la imagen en color y en Figura 1(b) el canal de luminancia). De esta forma, se_mantiene una resolución suficiente y se minimiza el coste computacional, además de preservar la relación de aspecto de la imagen.

A continuación, se realizan dos operaciones comunes de preprocesado: 1) un ajuste del contraste para utilizar completamente el rango dinámico de la imagen, y 2) una ecualización de histograma local y adaptativa para homogeneizar la iluminación de las imágenes. Este preprocesado alivia la variabilidad de los parámetros en la etapa de procesado y, por lo tanto, permiten alcanzar un ajuste robusto del algoritmo.

2.2. Morfología matemática

La morfología matemática es un campo importante del procesado de imágenes basado en la teoría de conjuntos y permite analizar la imagen por la forma de los objetos que contiene [10]. Los operadores morfológicos permiten simplificar los datos de la imagen manteniendo la forma y el contorno de sus objetos y minimizando los artefactos. Estos operadores comparan los datos de la imagen con un elemento estructurante, que suele ser una imagen binaria con una forma simple. Según el elemento y la operación morfológica elegida, se obtienen diferentes resultados [10]. En el método propuesto se utilizan las siguientes operaciones morfológicas: dilatación, apertura y cierre, denotadas, con los símbolos \bigoplus , \circ y •, respectivamente.

Para localizar el disco óptico consideraremos el canal rojo I_{R0} de la imagen en color [11] (véase Figura 1(c)). En I_{R0} se realiza un cierre y una apertura,

$$I_{RI} = ((I_{R0} \bullet D_{11}) \circ D_{11}), \tag{1}$$



Figura 1. a) imagen en color, b) luminancia, c) canal rojo I_{R0}, d) canal verde I_{G0}, e) canal azul I_{B0}, f) canal rojo sin venas I_{R2}, g) canal azul sin venas I_{B2}, h) localización automática del disco óptico y la excavación y ajuste mediante elipses.

donde D_{II} es un elemento estructurante circular con radio R=11. Estas operaciones borran elementos brillantes y oscuros más pequeños que el elemento estructurante. Como resultado, véase Figura 1(f), las venas son eliminadas de la imagen. A continuación, se aplica una apertura y el resultado se resta del anterior,

$$I_{R2} = (I_{R1} - (I_{R1} \circ D_{99})), \tag{2}$$

siendo D_{99} un elemento estructurante circular de radio R=99. Al aplicar un umbral a I_{R2} , no habrá elementos más pequeños que D_{11} ni más grandes que D_{99} en la imagen resultante,

$$M_{OD} = \text{thres}(I_{R2}). \tag{3}$$

Como resultado de esas operaciones, solo permanece en la imagen el área correspondiente al disco óptico.

La localización de la excavación sigue un proceso similar al del disco óptico, pero partiendo del canal azul de la imagen, I_{B0} , (véase Figura 1(e)). En primer lugar, se elimina el área fuera del disco óptico considerando una máscara binaria con el disco óptico detectado previamente y una dilatación con un elemento estructurante circular de radio R=31, lo que resulta en I_{B1} . A continuación, se aplica un cierre y una apertura con D_{11} ,

$$I_{B2} = ((I_{B1} \bullet D_{11}) \circ D_{11}), \tag{4}$$

que elimina las venas y los detalles pequeños (véase Figura 1 (g)). Posteriormente, se realizan las mismas operaciones que en el caso del disco óptico,

$$M_E = \text{thres}(I_{B2} - (I_{B2} \circ D_{5l})), \tag{5}$$

con la diferencia que ahora se utiliza para la apertura D_{5l} , un elemento estructurante circular de radio R=51.

La Figura 1(h) muestra la segmentación gruesa del disco óptico M_{OD} y de la excavación M_E mediante una curva azul y roja, respectivamente. La Figura 1(h) también perfila la aproximación de M_{OD} y M_E por elipses mediante mínimos cuadrados. Estas elipses son la inicialización de los contornos activos que se utilizarán en la siguiente sección para refinar las segmentaciones.

2.3. Contornos activos paramétricos

Los contornos activos paramétricos, o *snakes*, son curvas que varían en el tiempo y que se usan ampliamente en procesado de imágenes para delinear el contorno de los objetos [12]. Habitualmente se utilizan para la segmentación y el seguimiento de estructuras de interés en la imagen [13].

Un contorno activo se describe mediante una curva paramétrica $\mathbf{v}(s,t) = [v_1(s,t), v_2(s,t)]$ definida en \mathbb{R}^2 , donde *t* denota el tiempo, $v_i(s,t)$ representa la función coordenada para la dimensión *i*, y *s* es la variable paramétrica. La forma y posición de la curva se rige por la influencia de fuerzas internas y externas. Las fuerzas internas emulan las características físicas de la curva, como la elasticidad o rigidez. Las fuerzas externas dependen principalmente de la imagen y hacen que el modelo se ajuste a la forma del objeto a segmentar. La forma final de la curva la impone la minimización de un funcional de energía definido por un sistema de ecuaciones en derivadas parciales de segundo orden que incorpora las fuerzas internas y externas [12].

El método propuesto utiliza una implementación eficiente de las *snakes* basada en la formulación frecuencial descrita en [14]. Primero se aplica una discretización espacial a la curva por medio de elementos finitos,

$$v_i(s,t) = \mathbf{N}(s) \mathbf{u}_i(t), \tag{6}$$

siendo $\mathbf{N}(s)$ la función de forma y $\mathbf{u}_i(t)$ las coordenadas instantáneas del nodo *i*-ésimo. A continuación, se discretiza el tiempo, $t = \xi \Delta t$, donde Δt es el paso de discretización temporal y ξ el índice de la iteración. Finalmente, la formulación del modelo en el dominio espacial *s* se traslada al dominio de la frecuencia ω , obteniéndose la ecuación del proceso que gobierna la adaptación de la curva a los datos de la imagen,

$$U_{\xi}(\omega) = H(\omega)(a_1 U_{\xi-1}(\omega) + a_2 U_{\xi-2}(\omega) + Q_{\xi-1}(\omega)/(\eta F(\omega)))$$
(7)

donde $U(\omega)$ y $F(\omega)$ son las transformadas de Fourier de las coordenadas instantáneas de los nodos del modelo y de la función de forma, respectivamente. El filtro $H(\omega)$ impone las fuerzas internas debidas a las características físicas de la curva, mientras que las fuerzas externas se recogen en $Q(\omega)$. Los coeficientes de primer y segundo orden del sistema iterativo a_1 y a_2 controlan la inercia del modelo. El valor óptimo de estos parámetros para mejorar la convergencia del contorno se puede encontrar en [14].

La segmentación del disco óptico y la excavación se realiza utilizando dos contornos activos en la imagen del canal verde sin venas. Como función de forma se elige Bspline por su capacidad para minimizar el ruido y los artefactos. Las fuerzas externas $Q(\omega)$ se obtienen tras aplicar dos operaciones de gradiente a la imagen. Como resultado, se obtienen dos curvas que describen las dos regiones de interés, como se muestra en la Figura 2.

3. Resultados

Esta sección muestra los resultados obtenidos con el método propuesto y el conjunto preliminar de imágenes. Las principales características consideradas en la detección temprana del glaucoma son ISNT y CDR, que se describen brevemente a continuación. Los valores calculados automáticamente por el método propuesto se contrastan con los valores de CDR proporcionados por dos oftalmólogos expertos.

3.1. ISNT

Para diferenciar los ojos normales de los glaucomatosos en la evaluación clínica de la cabeza del nervio óptico, la regla ISNT establece que los ojos normales muestran una configuración característica para del disco. El grosor en el lado inferior (I) es mayor o igual que superior (S), que es mayor o igual que el nasal (N), que es mayor o igual que temporal (T), es decir, $I \ge S \ge N \ge T$ [6]. Los ojos que se desvían de esta regla pueden necesitar una estrecha monitorización para el glaucoma. Sin embargo, la utilidad de esta regla como criterio aislado no está demostrada para el diagnóstico precoz de glaucoma [15].

3.2. CDR

La relación copa-disco (*cup-to-disc ratio*, CDR) se usa comúnmente en oftalmología para evaluar la evolución del glaucoma. Por el centro del disco óptico viajan los vasos sanguíneos que entran (arterias) y salen (venas) de la retina. El borde rosado del disco contiene fibras nerviosas, mientras que la copa blanca es una excavación sin fibras nerviosas. El CDR compara el diámetro de la porción de copa o excavación del disco óptico con el diámetro total del disco óptico. Los valores normales de la relación copa-disco son 0.3-0.4.

El glaucoma, que en la mayoría de los casos está asociado con un aumento de la presión intraocular, a menudo produce un ahuecamiento patológico adicional del disco óptico secundario a la muerte de las células ganglionares de la retina cuyo axón constituye cada una de las fibras que forman el nervio óptico. A medida que avanza el glaucoma, la copa se agranda hasta que ocupa la mayor parte del área del disco. Un valor alto de la relación copadisco puede implicar glaucoma u otra patología. Un indicador de glaucoma es un aumento de la copa a medida que el paciente envejece. No obstante, una excavación grande por sí sola no es indicativa de glaucoma: pueden existir copas profundas pero estables sin glaucoma debido a factores genéticos. En el método propuesto, la relación copa-disco se ha calculado a partir de los contornos activos considerando los diámetros horizontal y vertical que cruzan el centro de masa de ambas curvas. Además de CDR_H y CDR_V , la relación copa-disco también se ha calculado teniendo en cuenta el área de cada curva como

$$CDR_S = \sqrt{\frac{S_{CUP}}{S_{OD}}},$$
(8)

que aproxima al área del disco óptico y la excavación, por $S_{OD} = \pi \left(\frac{d_{OD}}{2}\right)^2 y S_{CUP} = \pi \left(\frac{d_{CUP}}{2}\right)^2$, respectivamente.

La Figura 2 muestra los resultados del ISNT y CDR medidos en las imágenes con el método propuesto. La Tabla 1 recoge los valores de CDR proporcionados por dos oftalmólogos expertos, así como los valores calculados por el algoritmo.

4. Conclusiones

Este artículo ha abordado un método para localizar y segmentar automáticamente el disco óptico y la excavación en imágenes de fondo de ojo. Este método rápido y eficiente se basa en morfología matemática y una implementación de contornos activos en el dominio de la frecuencia. Los resultados muestran la precisión del método propuesto para proporcionar las medidas de CDR. Como trabajo futuro, el método se comparará con otros enfoques que utilizan bases de datos como STARE (http://cecas.clemson.edu/~ahoover/stare) o ORIGA-light [16] cuyo rendimiento está disponible.

Agradecimientos

	Experto #1		Experto #2		Método propuesto		
	CDR_H	CDR_V	CDR_H	CDR_V	CDR_H	CDR_V	CDR _S
Img #1	0.4	0.5	0.4	0.4	0.45	0.48	0.47
Img #2	0.6	0.6	0.5	0.5	0.52	0.53	0.52
Img #3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.45	0.46	0.45
Img #4	0.2	0.1	0.3	0.2	0.29	0.39	0.36

Trabajo financiado por los proyectos AES2017-PI17-00771 y AES2017-PI17-00821 (Instituto de Salud Carlos III) y por el proyecto 20901/PI/18 (Fundación Séneca).

Tabla 1. Valores de CDR proporcionados por dos oftalmólogos y el método propuesto.

Referencias

- [1] Sommer, A., *et al.*: Clinically Detectable Nerve Fiber Atrophy Precedes the Onset of Glaucomatous Field Loss. Archives of Ophthalmology 109(1), 77-83 (1991)
- [2] Jonas, J.B., Gusek, G.C., Naumann, G.O.: Optic disc, cup and neuroretinal rim size, configuration and correlations in normal eyes. Investigative Ophthalmology & Visual Science 29(7), 1151-1158 (1988)
- [3] Antón, A., et al.: Usefulness of OCT parameters of the optic disc and the retinal nerve fiber layer to differentiate glaucomatous, ocular hypertensive, and normal eyes. Journal of Glaucoma 16(1), 1-8 (2007)



(c) Img #003

(d) Img #004

Figura 2. Medidas automáticas de ISNT y CDR.

- [4] Jonas, J.B., Fernández, M.C., Naumann, G.O.H.: Glaucomatous Parapapillary Atrophy: Occurrence and Correlations. Arch. Ophthalmology 110(2), 214-222 (1992)
- [5] Alasil, T., et al.: Analysis of normal retinal nerve fiber layer thickness by age, sex, and race using spectral domain OCT. Journal of glaucoma 22(7), 532-541 (2013)
- [6] Law, S.K., *et al.*: Evaluation of the "IS" rule to differentiate glaucomatous eyes from normal. Journal of glaucoma 25(1), 27-32 (2016)
- [7] Varma, R., et al.: Race-, Age-, Gender-, and Refractive Error Related Differences in the Normal Optic Disc. Archives of Ophthalmology 112(8), 1068-1076 (1994)
- [8] Ong, L.S., *et al.*: Asymmetry in optic disc parameters: the Blue Mountains Eye Study. Investigative Ophthalmology & Visual Science 40(5), 849-857 (1999)
- [9] Tatham, A.J., Weinreb, R.N., Medeiros, F.A.: Strategies for improving early detection of glaucoma: the combined structure-function index. Clinical ophthalmology 8, (2014)
- [10] Soille, P.: Morphological Image Analysis: Principles and Applications. Springer-Verlag, 2 edn. (2003)
- [11] Oktoeberza, K.Z.W., Nugroho, H.A., Adji, T.B.: Optic disc segmentation based on red channel retinal fundus images. Intelligence in the Era of Big Data pp. 348-359 (2015)
- [12] Liang, J., McInerney, T., Terzopoulos, D.: United snakes. Medical Image Analysis 10(2), 215-233 (2006)
- [13] Bastida-Jumilla, *et al.*: Segmentation of the common carotid artery walls based on a frequency implementation of active contours. Journal of Digital Imaging 26(1), (2013)
- [14] Berenguer-Vidal, R., Verdú-Monedero, R., Morales-Sánchez, J.: Convergence analysis of multidimensional parametric deformable models. Computer Vision and Image Understanding 135, 157-177 (2015)
- [15] Poon, L.Y.C., *et al.*: The ISNT rule: How often does it apply to disc photographs and retinal nerve fiber layer measurements in the normal population? American Journal of Ophthalmology 184, 19-27 (2017)
- [16] Zhang, Z., et al.: Origa-light: An online retinal fundus image database for glaucoma analysis and research. Int Conf IEEE Engineering in Medicine and Biology (2010)

Propuesta de arquitectura de un sistema para la asistencia en el diagnóstico de la EPOC

A. de Ramón Fernández, D. Ruiz Fernández, D. Marcos Jorquera, V. Gilart Iglesias

Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, Alicante, España, {aderamon, druiz, dmarcos, vgilart}@dtic.ua.es

Resumen

La EPOC es una enfermedad respiratoria de naturaleza crónica con una alta morbilidad. Con frecuencia, esta enfermedad es diagnosticada incorrectamente o no diagnosticada. Entre los factores que contribuyen a un diagnóstico erróneo se encuentra la falta de estandarización que existe entre las principales guías clínicas, la falta de formación sobre esta enfermedad entre el personal médico de los centros de atención primaria y un cuadro sintomatológico similar al de otras enfermedades respiratorias que induce a la confusión diagnóstica. En este trabajo, se ha realizado un análisis de las principales debilidades que tiene el proceso diagnóstico actual. Para superar estas debilidades, se ha propuesto un rediseño del proceso y la arquitectura de un sistema para la gestión del diagnóstico de la EPOC bajo la estrategia de gestión de procesos de negocio BPM que guíe al personal médico en el diagnóstico.

1. Introducción

enfermedades respiratorias crónicas (ERC) Las representan la principal causa de mortalidad en el mundo. En la actualidad, según datos publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), son la causa del 63% de las muertes registradas y se prevé que esta cifra siga aumentando. Las ERC se caracterizan por la inflamación y obstrucción crónica de las vías respiratorias y otras estructuras del pulmón. Entre las ERC que presentan mayor morbilidad en la población se encuentran: el asma, las alergias respiratorias, las bronquiectasias, la hipertensión pulmonar, las enfermedades pulmonares de origen laboral y la EPOC. Recientes estimaciones de la OMS cifran en 235 millones los pacientes que sufren asma, 64 millones sufren EPOC y muchos millones de personas más que sufren otras ERC que a menudo no llegan a diagnosticarse.

La guía Global Initiative Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) [1] define la EPOC como una enfermedad común, evitable y tratable que se caracteriza por la limitación del flujo aéreo que no es completamente reversible. Esta limitación es, por lo general, progresiva y se asocia con una respuesta inflamatoria pulmonar anormal a partícula o gases nocivos.

Uno de los principales factores de riesgo para padecer EPOC es el tabaquismo [1], aunque hay otros factores que también pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad como los genes, la edad, el sexo, el crecimiento y el desarrollo del pulmón durante la gestación, la exposición a partículas [1], [2] la contaminación atmosférica [3], las infecciones respiratorias repetitivas en la infancia y la hiperreactividad bronquial [4].

Como en toda enfermedad crónica, el diagnóstico precoz de la enfermedad es fundamental para evitar su progresión, mejorar la calidad de vida de los pacientes y reducir el impacto económico soportado por los sistemas públicos de salud. Sin embargo, el proceso descrito en las principales guías clínicas para la gestión de la EPOC presenta importantes debilidades en cada uno de los diferentes subprocesos que lo conforman, especialmente en el subproceso de diagnóstico. Numerosos estudios advierten que la EPOC es a menudo mal diagnostica o diagnosticada erróneamente. Las principales causas de esto están relacionadas con errores en la prueba espirométrica, falta de personal especializado en los centros de atención primaria, errores en el diagnóstico diferencial y factores relacionados con los pacientes que dificultan el diagnóstico, como por ejemplo que éstos permanezcan asintomáticos en estadios tempranos de la enfermedad.

En este trabajo se presenta un rediseño del proceso de diagnóstico de la EPOC que ayude a superar las principales debilidades que pueden provocar errores y una propuesta de arquitectura de un sistema que permita asistir al profesional sanitario durante el diagnóstico.

2. Estado del arte

La EPOC es una enfermedad crónica que se suele caracterizar por una limitación en el flujo aéreo que entra en los pulmones de una manera persistente, asociada a una inflamación crónica de las vías aéreas y pulmones. Las personas fumadoras o que viven en ambientes dónde el aire contiene partículas muy contaminadas son los más propensos a sufrir esta enfermedad aunque otros factores también pueden influir.

Para tratar la EPOC existen en la actualidad multitud de guías tanto a nivel local como a nivel internacional. A nivel internacional, cabe destacar la propuesta por la GOLD. Esta iniciativa americana reúne a profesionales sanitarios de todo el mundo para crear conciencia, mejorar la prevención y el tratamiento de la EPOC. Recientemente en 2018, el Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica (NICE) [5] publicó la última actualización de su guía de práctica clínica publicada por primera vez en 2004. El documento contiene recomendaciones relacionadas con los nuevos criterios diagnósticos y los cambios en la clasificación de la enfermedad. La guía ERS/ATS publicada de forma conjunta por la European Respiratoy Society y la American Thoracic Society también estableció un nuevo criterio para el diagnóstico y tratamiento de enfermos de EPOC [6].

A nivel nacional, en 2012 se publicó la primera guía de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (gesEPOC) para el tratamiento y diagnóstico de la enfermedad. GesEPOC fue en sus inicios una iniciativa de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) que en colaboración con el resto de sociedades científicas y las asociaciones de pacientes publicó una nueva versión actualizada en 2017[7].

Un factor clave a la hora de abordar el diagnóstico de la enfermedad es el uso de las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC). Las TIC cada día tienen un papel más importante dentro del proceso clínico, ayudando desde hace años tanto a personal médico como a pacientes a un mejor control de la salud. En la actualidad, ya existen algunas aplicaciones móviles y web dedicadas al diagnóstico de la EPOC. Es el caso de la aplicación móvil desarrollada por Pinto et al.[8]. La aplicación recoge los valores medidos por el espirómetro y un oxímetro y junto con la sintomatología descrita y el número de exacerbaciones proporciona un diagnóstico de acuerdo con las directrices de la GOLD. La aplicación propuesta en [9] utiliza el micrófono del dispositivo móvil para registrar las exhalaciones del paciente. La señal recogida es procesada hasta obtener la señal que representa el flujo aéreo del paciente. Por último se calcula el ratio entre el volumen expirado en el primer segundo (FEV1) y la capacidad vital forzada (FVC) y se diagnóstica la gravedad de la enfermedad de acuerdo a la guía GOLD.

Este tipo de soluciones permiten generar un diagnóstico de EPOC de forma automática pero sin valorar posibles diagnósticos alternativos ni solapamiento de síntomas con otras enfermedades respiratorias. Nuestra propuesta pretende crear un sistema que asista al profesional durante el diagnóstico, guiándolo durante todo el proceso y proporcionándole información para la correcta interpretación de los resultados. Con esto se pretende estandarizar un proceso en donde el profesional médico es actor principal en la definición del diagnóstico.

3. Proceso actual

Las principales guías clínicas nacionales e internacionales citadas anteriormente establecen cuatro pasos fundamentales para la fase de diagnóstico: evaluación, diagnóstico, estratificación del riesgo y clasificación. A partir de aquí, cada una establece una serie de subtareas o procedimientos específicos lo que indica la falta de un estándar de facto.

De forma general, el proceso de diagnóstico se inicia cuando el paciente acude a consulta refiriendo problemas respiratorios. La sospecha clínica de padecer EPOC se establece si el paciente es mayor de 35 años y presenta síntomas como disnea, tos o esputos de forma crónica o está expuesto a factores de riesgo.

A partir de aquí, el médico debe realizar una exploración física para detectar otros síntomas como edemas, presión

arterial elevada o valores anómalos en la frecuencia cardiaca.

Para confirmar el diagnóstico, es necesario realizar una espirometría post-broncodilatación. Si la prueba espirométrica es negativa, se debe descartar el diagnóstico de EPOC. En caso positivo, se debe realizar el diagnóstico diferencial antes de confirmar el diagnóstico. Este paso es importante ya que otras enfermedades respiratorias como el asma presentan un cuadro sintomatológico similar al de la EPOC. Para el realizar el diagnóstico diferencial, es posible que el/la médico requiera de pruebas adicionales, generalmente radiografía o tomografía computarizada de tórax o análisis de sangre.

Una vez descartados otros posibles diagnósticos, se diagnostica al paciente como enfermo de EPOC y se procede a valorar la intensidad de la enfermedad. En general, ésta viene determinada por la limitación del flujo aéreo mostrada en la espirometría, el número de exacerbaciones en el último año y el grado de disnea. Esto permite establecer cuatro estadios de la enfermedad: leve, moderado, severo o muy severo.

Al finalizar el diagnóstico, el médico debe definir un tratamiento que mejore la sintomatología, reduzca la frecuencia de las exacerbaciones y permita una evolución favorable de la enfermedad, mejorando así la calidad de vida del paciente.

4. Debilidades del proceso actual

El diagnóstico de la EPOC en centros de atención primaria presenta actualmente numerosas ineficiencias que afectan directamente a la calidad de vida de los pacientes y aumenta el coste que debe ser soportado por los sistemas públicos de salud.

En primer lugar, a nivel nacional no existe una guía que sirva de referencia y estandarice el proceso diagnóstico. Existe, por ejemplo, algunas discrepancias entre diferentes guías consultadas sobre el rango de edad para definir la población de riesgo, o si es necesaria la condición de fumador o exfumador del paciente para establecer la sospecha clínica.

Sin embargo, las principales ineficiencias se deben a errores que se cometen en los centros de atención primaria. Esto es debido a menudo por la falta de especialistas en el tratamiento de esta enfermedad que propicia errores de diagnóstico, también debido a la cantidad de síntomas que se superponen con otras enfermedades respiratorias. La otra gran causa que provoca la confusión diagnóstica se debe a errores cometidos durante la prueba espirométrica: el espirómetro no está calibrado, no se realiza correctamente, no se interpretan adecuadamente las curvas espirométricas o no se registra la prueba.

Por último, existen otros factores inherentes al paciente como el sexo y la raza del paciente o la ausencia de síntomas pueden condicionar el diagnóstico.

5. Rediseño del proceso

El sistema propuesto se centra en la aplicación de la estrategia Business Process Management (BPM) basada en la gestión de procesos negocio orientada a la mejora continua y que tiene las tecnologías de la información y de la comunicación (TICs) como uno de sus pilares fundamentales para alcanzar los objetivos estratégicos que se planteen. El modelado de procesos es un paso clave en BPM y se puede utilizar para describir el proceso como es en la actualidad (AS-IS) y también para proyectar la versión optimizada (TO-BE). La notación formal BPMN permite representar de forma gráfica el proceso de forma sencilla y sirve como punto de referencia para la estandarización del mismo. En la figura 1, se muestra el rediseño propuesto para el de diagnóstico de la EPOC en BPMN.

El proceso comienza cuando el paciente solicita una cita médica telemáticamente a través de un portal sanitario. Si el paciente es mayor de 40 años, el sistema BPM (BPMS) envía al paciente un sms para sugerirle que realice un screening inicial. Si éste es positivo, se registra en el sistema la sospecha clínica de EPOC. El proceso continúa el día de la cita médica con una evaluación más detallada de los síntomas del paciente y la actualización de su historial médico. Si el médico confirma la sospecha clínica, debe realizar la espirometría. El BPMS asistirá al profesional para realizar la prueba, comprobando la calibración del espirómetro proporcionando у instrucciones de cómo debe realizarse e interpretarse los resultados. El médico debe validar la aceptabilidad de la prueba, mientras que el sistema se encargará de verificar reproducibilidad de la misma a partir de los datos obtenidos. En caso de que la prueba sea positiva y ésta haya sido validad, se debe realizar a continuación el diagnóstico diferencial para descartar otras enfermedades. Para ello, es posible que el profesional requiera de pruebas complementarias (análisis de sangre, tomografía computarizada, radiografía de torax...). Una vez validada la prueba y descartadas otras posibles enfermedades, el BPMS sugerirá el diagnóstico atendiendo a los resultados de la prueba y a las características del paciente.

A continuación, el sistema clasifica la intensidad de la enfermedad según cuatro niveles: leve, moderato, grave o muy grave. Si el paciente se encuentra en un estadio grave o muy grave o si tiene exacerbaciones frecuentes debe ser derivado a un especialista. Para ello, el BPMS asistirá al profesional para que complete el informe de derivación que contenga toda la información necesaria para la correcta interpretación por parte del especialista en Neumología.

Este nuevo diseño del proceso diagnóstico tiene como principal objetivo asistir al profesional sanitario en el diagnóstico y estimación de la intensidad de la EPOC, promoviendo el diagnóstico precoz de la enfermedad, mejorando la precisión y acelerando los tiempos de diagnóstico.

6. Propuesta de arquitectura

Una vez realizado el rediseño del proceso, se ha planteado una propuesta que integra dispositivos inteligentes, dispositivos de medición, personal médico y pacientes en el proceso diagnóstico de la EPOC bajo un enfoque BPM. En primer lugar, tanto médicos como pacientes tiene acceso al sistema a través de aplicaciones de usuario. El paciente vía web realiza el screening preliminar que servirá al sistema para establecer la sospecha clínica. Por su parte, el médico también puede actualizar el historial clínico del paciente en el sistema e imputar otra información clínica relevante para el diagnóstico.

Por otra parte, los dispositivos de medición, en este caso un espirómetro aunque podría integrarse otros dispositivos como por ejemplo un pulsióximetro, recogen de forma automática los datos del paciente. Muchos de estos dispositivos tienen su propio interfaz de usuario que simplifica su uso. Una vez recogida la información, ésta se envía al centro de datos a través de un dispositivo inteligente que hace de gateway para el envío de la información. El dispositivo inteligente tiene su propia aplicación móvil que se encarga de dar un formato estándar a los datos recibidos para que éstos puedan ser interpretados correctamente por el sistema y de verificar que la medición realizada por el dispositivo es correcta. Dependiendo de si la aplicación del dispositivo es de código abierto o privada, el flujo de la información puede seguir dos caminos. Normalmente si se utilizan aplicaciones privadas, la información se envía a una nube privada siguiendo la ruta A1 como se muestra en la figura 2. El centro de datos donde se ejecuta el proceso clínico obtiene los datos útiles previa consulta a dicha nube privada, siguiendo la ruta A2. Por otra parte, si se utilizan aplicaciones de código abierto, la información almacenada en el dispositivo se puede enviar automáticamente vía WiFi o 3G/4G al centro de datos evitando protocolos de comunicación privados, como se muestra en B.

Una vez que los datos se almacenan en el centro de datos, éstos se incluyen automáticamente en el proceso de diagnóstico. El proceso clínico, que previamente ha sido modelado en BPMN es implementado por un BPMS asistiendo al profesional durante el diagnóstico y la información recogida durante todo el proceso es estará siempre disponible para el personal médico mediante conexión a Internet.



Figura 2. Arquitectura del sistema propuesto



Figura 1. Modelado BPMN proceso de diagnóstico de la EPOC.

7. Conclusiones

La EPOC es una enfermedad respiratoria de naturaleza crónica con una alta morbilidad. Para ayudar al diagnóstico de la enfermedad, en este trabajo se ha analizado el proceso actual, detectando sus ineficiencias y se ha propuesto una arquitectura de un sistema que asista al profesional durante el diagnóstico. El sistema BPM propuesto contempla el rediseño del proceso actual, la integración de dispositivos de medición y la gestión e interpretación de la información para proporcionar un diagnóstico correcto.

El sistema persigue la estandarización del proceso asegurando que se cumplen los pasos necesarios ante de establecer o descartar el diagnóstico y también promueve el diagnóstico precoz, mediante la detección oportunista de pacientes que se encuentren entre la población de riesgo con un screening inicial. También se pretende que el sistema propuesto ayude reducir los errores cometidos durante la espirometría, como la falta de calibrado del espirómetro o la incorrecta realización y/o interpretación de los resultados.

Referencias

- Decramer M, Vestbo J. "Chronic Obstructive Pulmonary Disease Updated 2016 Global Initiative for Chronic Obstructive L ung D isease," *Gold*, 2016.
- [2] Melchor S, Aso O. "Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud," 2003.
- [3] Molinuevo JL, Peña-Casanova J, "Guías de práctica clínica en el sns ministerio de sanidad, política social e igualdad," Soc. Española Neurol., 2009.
- [4] Network RH and Wa H, "Chronic Obstructive

Pulmonary Disease Model of Care," *PDF Present.*, no. August, pp. 1–51, 2012.

- [5] Nice Guidelines, "Chronic obstructive pulmonary disease in over 16s: diagnosis and management," no. June, pp. 1–31, 2010.
- [6] Celli BR *et al.*, "Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: A summary of the ATS/ERS position paper," *Eur. Respir. J.*, vol. 23, no. 6, pp. 932–946, 2004.
- [7] Miravitlles M et al., "Guía española de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (GesEPOC) 2017. Tratamiento farmacológico en fase estable," Arch. Bronconeumol., vol. 53, no. 6, pp. 324–335, 2017.
- [8] Pinto M and Marques P. "OneCare Spiro: Mobile application for monitoring and pre-diagnosis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease," *ENBENG 2017 - 5th Port. Meet. Bioeng. Proc.*, pp. 1–4, 2017.
- [9] Hasan H, Safieh B, Aloul F, Sagahyroon A. "Diagnosing COPD Using Mobile Phones Diagnosing COPD Using Mobile Phones," no. January, 2015.

Entorno virtual para aplicaciones BCI como prueba de concepto para solventar problemas de movilidad y accesibilidad

C. Abascal¹, D. Moreno-Blanco¹, I. Oropesa¹, M. Rodriguez-Matesanz¹, P. Sánchez-González^{1,2} and E.J. Gómez^{1,2}

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

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

Resumen

Las personas con movilidad reducida presentan problemas para desarrollar una vida normal. Más de 1,8 millones necesitan ayuda para salir de su casa y realizar actividades cotidianas. Las tecnologías asistivas buscan dar respuesta a este problema, buscando soluciones tecnológicas que permitan a estas personas recuperar su autonomía y mejorar su calidad de vida. El presente trabajo tiene como objetivo realizar una exploración de la tecnología BCI y validar si es una tecnología asistiva válida que pueda dar solución a este problema. Para este fin, se ha desarrollado un sistema que permite entrenar comandos mentales para que el usuario pueda ajustarlos y adaptar el sistema a sus características, así como probarlos en un entorno virtual v comprobar su dominio sobre los mismos. Como dispositivo BCI, se utiliza el dispositivo comercial Emotiv EPOC+. Este es un dispositivo BCI inalámbrico, ligero y de bajo coste que puede ser una solución básica y eficaz para las personas con problemas de movilidad. Los resultados obtenidos son prometedores, aunque es necesario realizar más pruebas. Sobre todo, porque se han encontrado diversas limitaciones en este primer sistema, por lo que es necesario seguir trabajando en esta línea antes de poder llevar este sistema a interacciones con el mundo real.

1. Introducción

En España viven 2,5 millones de personas que tienen movilidad reducida. Más de 1,8 millones de estas personas con movilidad reducida (74%) precisan de ayuda para salir de sus casas y alrededor de 100.000 personas (un 4%) que no disponen de esta ayuda no lo hace nunca [1]. Es imprescindible que las personas con discapacidad sean autónomas para que puedan participar en igualdad de condiciones y ejercer su derecho a la educación, al empleo o al ocio.

Las tecnologías asistivas engloban cualquier dispositivo o sistema que permita a una persona realizar una tarea que de otra manera por sí sola no podría realizar, o que le sirva para aumentar la seguridad y/o la facilidad con la que se puede llevar a cabo dicha tarea [2, 3]. Gracias a los últimos avances en hardware y software, la tecnología asistiva ha evolucionado a sistemas muy completos capaces de comunicar a las personas que padecen alguna discapacidad con su entorno de forma muy precisa [4].

Sin embargo, muchas de las personas que tienen problemas de movilidad sufren enfermedades degenerativas. Esto hace que, en estados avanzados de su enfermedad, la movilidad se vea cada vez más reducida, reduciendo también el número de tecnologías asistivas que pueden utilizar. Una de las pocas alternativas que pueden seguir usando hasta el final es la tecnología de Interfaz Cerebro Computador (BCI), que permite la interacción cerebrocomputadora, a partir de características o patrones de onda generados por la actividad del cerebro. A su vez es necesario traducir dichas ondas en señales de control dirigidas a un computador u otro dispositivo electrónico y así poder interaccionar con un mundo físico o virtual [5]. El estudio de las interfaces BCI ha sufrido un desarrollo y crecimiento exponencial en las últimas tres décadas, impulsándolas a estar presentes en multitud de campos [6].

Mediante el uso de la tecnología BCI se pretende desarrollar un sistema que permita a las personas con problemas de movilidad realizar acciones sencillas y cotidianas, como abrir o cerrar una puerta o controlar una silla de ruedas y que sea válida para altos grados de discapacidad, que otro tipo de tecnologías asistivas no son capaces de solventar.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo y validación de un sistema que permite al usuario interactuar, mediante diversos comandos mentales, en un entorno virtual desarrollado para dicho fin. En dicho entorno también se pueden entrenar los comandos, para adquirir un mejor control del dispositivo y una mayor adaptación de éste.

2. Materiales

2.1. EPOC+

Para este trabajo se ha usado el dispositivo EEG comercial EPOC+ [7] de la empresa Emotiv (Figura 1a). El EPOC+ consta de 14 electrodos húmedos de base salina, cada uno asociado a un canal, colocados según el sistema internacional 10/20.



Figura 1. (a) Dispositivo EPOC+. (b) Disposición de los electrodos en el dispositivo EPOC+

155

La Figura 1b muestra la posición de fijación de los electrodos. Las posiciones en las que se ubican los electrodos son AF3, F7, F3, FC5, T7, P7, O1, O2, P8, T8, FC6, F4, F8, AF4 formando 7 juegos de canales simétricos. Adicionalmente, incluye dos electrodos ubicados justo encima de los oídos, CMS y DRL. Estos electrodos se utilizan como referencias, uno para el hemisferio izquierdo y el otro para el hemisferio derecho de la cabeza. Antes de colocarlos es necesario empaparlos con un líquido de base salina.

Inicialmente EPOC+ estaba dirigido al mercado de los videojuegos para aplicaciones cerebro-computadora, aunque con el avance del tiempo se ha orientado a aplicaciones médicas y científicas [8, 9]. EPOC+ permite el acceso de forma sencilla a los datos cerebrales, y mediante unas herramientas propias de procesamiento permite detectar y estudiar funcionalidades tales como comandos mentales, métricas de rendimiento o expresiones faciales [7].

2.2. Unity

Unity [10] es un motor de videojuego multiplataforma desarrollado por Unity Technologies disponible para los sistemas operativos Windows, MacOS y Linux. Integra un motor de simulación física NVIDIA PhysX y Mono, la implementación de código abierto de las bibliotecas .NET de Microsoft. De forma general se utiliza para desarrollar videojuegos en 2D o 3D y también para el desarrollo de entornos virtuales, como es el caso de esta aplicación.

3. Metodología

El flujo de uso la aplicación es el que se puede observar en la Figura 2.



Figura 2. Flujo de la aplicación

En primer lugar, el usuario tiene que tomar una decisión sobre qué desea realizar: **Entrenar** o **Comenzar**. Si selecciona **Entrenar**, el sistema realizará un entrenamiento de los comandos mentales. El usuario tendrá que seleccionar qué acción desea entrenar y si el entrenamiento ha sido satisfactorio o no. Si por el contrario selecciona **Comenzar**, el usuario utilizará los comandos mentales en el entorno de interacción virtual.

3.1. Arquitectura del Sistema



Figura 3. Diagrama de arquitectura del sistema desarrollado

La arquitectura del sistema consta de tres elementos principales: (1) **Cortex API**, (2) **Servidor de gestión** y (3) **Entorno virtual**. Se comunican entre ellos mediante conexiones TCP y UDP en el caso del envío de comandos del servidor al entorno virtual.

3.2. Cortex API

Para extraer los datos del EPOC+ es necesario hacerlo a través de Cortex API, la interfaz de programación de aplicaciones que permite interactuar con los productos de la familia Emotiv. Cortex API consta de un conjunto de subrutinas y procedimientos para ser utilizada por otro software como una capa de abstracción.

3.3. Servidor de gestión

El servidor se ha desarrollado con el framework NodeJS. Se ha creado como herramienta central para el control de las acciones que se realizan en el sistema completo. Este servidor es el nexo entre Cortex API y Unity, a través de él se van a gestionar todas las solicitudes y respuestas. El servidor de gestión se ha desarrollado como un módulo independiente para poder reutilizarlo en futuras aplicaciones distintas al entorno virtual.

Como parte común a todos los procesos se encuentra la fase de autenticación y actualización del perfil. El proceso comienza por la secuencia de *login* seguido por la autentificación, donde se genera el token necesario para realizar las peticiones asociadas al usuario.

Posteriormente se distinguen dos procesos diferenciados en las funcionalidades: el proceso de entrenamiento y el proceso de interacción. En **entrenamiento** se configura Cortex para que procese los datos recogidos de los sensores del dispositivo EPOC+ como un entrenamiento asociado a un comando mental previamente definido. En **interacción** se configura Cortex para que envíe un evento cada vez que el usuario realiza un comando mental, así como la intensidad con la que llega.

3.4. Entorno virtual

El objetivo principal de este entorno es permitir al usuario entrenar los diversos comandos mentales con los que luego va a interactuar. Además, se ha incluido un apartado donde es posible probar dichos comandos interactuando con diversos objetos.

Este entorno es la interfaz principal mediante la cual el usuario realizará todas las interacciones con el sistema. Este entorno se ha desarrollado en Unity, como se ha indicado anteriormente.

3.5. Comunicación

La comunicación entre el servidor y el Cortex API se realiza mediante protocolo TCP. En casi todos los métodos es un sistema simple de petición y respuesta, salvo en el método *subscribe*, para el que se debe asignar una función de tipo *listener* que se ejecute cada vez que se reciba un evento procedente de Cortex.

Para la comunicación con el entorno virtual el servidor envía los eventos mediante protocolo UDP, y es el entorno el que esta escuchando continuamente. Sin embargo, cuando el entorno virtual requiere una acción o una configuración específicas, envía una petición TCP al servidor.

4. Resultados

A continuación, se muestran las capturas realizadas a la aplicación final a través de un caso de uso sencillo.

En la Figura 4 podemos observar el menú inicial de la aplicación. Esta es la primera pantalla a la que se accede cuando se inicia la aplicación. En esta pantalla podremos elegir entre las opciones indicadas en el apartado anterior: "Comenzar" o "Entrenar", así como abrir la ayuda de la aplicación o salir de la misma.



Figura 4. Pantalla inicial de la aplicación

Si el usuario selecciona la opción de entrenar accederá a un nuevo menú, que se puede observar en la Figura 6, donde podrá seleccionar qué acción desea entrenar.



Figura 5. Pantalla del menú de entrenamiento de la aplicación

Una vez seleccionada la acción que se desea entrenar, se abrirá la sala de entrenamiento, que se puede observar en la figura 7. En esta sala, se observa un pequeño menú en la esquina inferior derecha, con 5 botones:

- "Comenzar" para iniciar el entrenamiento de la acción seleccionada anteriormente.
- "Aceptar" y "Rechazar" para guardar o descartar el entrenamiento cuando éste ha finalizado.
- "Resetear", para volver a comenzar el entrenamiento y "Salir" para volver al menú principal.

Cuando se comienza el entrenamiento, el usuario tendrá que concentrarse en el comando mental que está entrenando. El cubo que se observa realizará el movimiento que se está entrenando. Es decir, si el usuario está entrenando el movimiento "empujar" el cubo se desplazará hacia el fondo. Sin embargo, si está entrenando "tirar", el cubo se desplazará hacia delante.



Figura 6. Sala de entrenamiento de la aplicación

Cuando en el menú principal (Figura 4) se selecciona la función de "Comenzar" se accede a la sala de interacción, que se observa en la Figura 8. En esta sala se muestra una puerta y una silla. La puerta reaccionará a las acciones de "Tirar" y "Empujar" abriéndose y cerrándose. La silla reaccionará a las acciones de "Mover derecha" y "Mover izquierda" desplazándose al lugar correspondiente.



Figura 7. Sala de interacción de la aplicación

5. Conclusiones

De las pruebas realizadas con este sistema, se han podido extraer diversas conclusiones. Por un lado, se ha encontrado que el dispositivo EPOC+ es válido para este sistema. El sistema es efectivo tanto para entrenar como para validar la habilidad adquirida para ejecutar los comandos mentales y observar el nivel de destreza del usuario. Además, al ser inalámbrico permite que el usuario pueda moverse libre y cómodamente.

Sin embargo, también se han encontrado limitaciones. Respecto al dispositivo EPOC+, se ha comprobado que tras largos periodos de uso (más de 2 horas seguidas) el dispositivo resulta incómodo para el usuario, además de que es necesario rehumedecer los electrodos ya que si no su funcionamiento empieza a ser deficiente. Por otro lado, el proceso de entrenamiento es relativamente complejo y requiere un tiempo considerable para lograr un nivel aceptable del dominio de los comandos.

En cuanto al sistema, la principal limitación encontrada es la dificultad de detectar sobre qué objeto se desea actuar dentro del entorno. Esta limitación también estaría presente, y con mayor intensidad, en entornos reales, es decir, en las situaciones cotidianas donde se quisiese interactuar mediante el BCI. En primer lugar, los objetos de dicho entorno real deberán estar domotizados, y en segundo lugar deben tener un sistema por el cual el usuario pueda seleccionarlos para interactuar con ellos. En esta primera versión también se ha encontrado el problema de que la plataforma carece de un sistema de gestión de usuarios, por lo que para realizar pruebas con diversos usuarios es necesario modificar el usuario en el código fuente de la plataforma.

Para paliar estas limitaciones, se observa incluir en futuras versiones nuevas funcionalidades. Se quiere implementar un sistema de gestión de usuarios, que permita el registro y la realización de las pruebas por diversos usuarios. También se pretende realizar una mejora en la sala de interacción que permita un entorno más realista. Entre los requisitos de esa nueva sala, se pretende incorporar la tecnología de eye-tracking. Con esta tecnología será posible seleccionar el objeto sobre el que queremos interactuar aplicando los comandos mentales. Así se eliminará la actual limitación existente de exclusividad entre comandos mentales y objetos.

Este sistema podría servir para que personas con problemas de movilidad muy reducida entrenasen y se adaptasen al sistema BCI, que posteriormente podrían utilizar para lograr una mayor independencia y autonomía en su día a día gracias a él.

Referencias

- [1] Fundación Mutua de Propietarios . La accesibilidad de las viviendas en España. 2018.
- [2] Cowan D, Turner-Smith A. The Role of Assistive Technology in Alternative Models of Care for Older People. in *Research, HMSO*, vol 2, 1999, pp 325–345.
- [3] McCreadie C, Tinker A. The acceptability of assistive technology to older people. *Ageing and Society*, vol 25, no 1, 2005, pp 91–110, (ISSN: 0144686X).
- [4] Al-Rahayfeh A, Faezipour M. Eye Tracking and Head Movement Detection: A State-of-Art Survey. *IEEE journal* of translational engineering in health and medicine, vol 1, 2013, p 2100212, (ISSN: 2168-2372).
- [5] Minguez J. Tecnología de Interfaz Cerebro Computador. 2012.
- [6] Moran D. Evolution of brain-computer interface: Action potentials, local field potentials and electrocorticograms. *Current Opinion in Neurobiology*, vol 20, no 6. Elsevier Current Trends, pp 741–745, 01-Dec-2010.
- [7] Emotiv. https://www.emotiv.com/ (Consultada: Sep 2019).

- [8] Faruk AM, Hussein AB, Rashed MA, Rezeka SF, El-Habrouk M. Solar-Rechargeable Brain-Controlled Wheel-Chair for Paralytic Patients Using Emotiv Epoc+. *International Journal of Robotics and Mechatronics*, vol 5, no 1, 2018, pp 20–33, (ISSN: 22885889).
- [9] Alrajhi W, Alaloola D, Albarqawi A. Smart home: toward daily use of BCI-based systems. in 2017 International Conference on Informatics, Health & Technology (ICIHT), 2017, pp 1–5.
- [10] Plataforma de desarrollo en tiempo real de Unity | Visualizaciones de VR y AR en 3D y 2D. https://unity.com/es (Consultada: Sep 2019).

Macroanálisis de variables demográficas, de salud y de estilo de vida en voluntarios en estudio longitudinal de cohortes sobre salud cerebral

M. Jiménez Hernando¹, D. Moreno Blanco¹, P. Sánchez-González^{1,2}, J. Solana Sánchez³, E. J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, España, {mjimenez, dmoreno, psanchez, egomez} <u>@gbt.tfo.upm.es</u>

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Zaragoza, España
³ Institut Guttmann, Institut Universitari de Neurorehabilitació a la UAB, Badalona, España

Resumen

Estudiar en detalle los beneficios que aportan los hábitos de vida será clave para prevenir o disminuir el impacto de la posible aparición de enfermedades de origen neurológico en personas de mediana edad. Gracias a la colaboración del Barcelona Brain Health Initiative (BBHI), se ha realizado un análisis de los marcadores del bienestar que pueden contribuir a la mejora de la salud cerebral. Estos marcadores son la síntesis de las 650 preguntas sobre diferentes hábitos y percepción subjetiva de salud de aproximadamente 5.100 voluntarios/as con edades comprendidas entre los 40 y los 65 años.

Estudiando las correlaciones estadísticas entre los marcadores del bienestar, se analizarán y cuantificarán sus conexiones. Los resultados muestran relaciones distintas entre estos marcadores, por ejemplo, la relación de la calidad del sueño con la aflicción emocional, los factores que afectan a percepción positiva sobre la salud mental de las personas o que la calidad de vida afecta positivamente a la motivación con la vida, entre otros.

1. Introducción

Para el año 2030 se estima que la mitad del impacto económico de la discapacidad a nivel mundial sea debido a enfermedades neurodegenerativas [1].

Actualmente está ampliamente aceptado [2] que los cambios estructurales y funcionales del cerebro asociados con las enfermedades neurodegenerativas pueden aparecer entre 10 y 20 años antes de que los síntomas de la propia enfermedad se manifiesten. Así, crece la necesidad de realizar investigación sobre los factores y hábitos de vida saludable que pueden prevenir este tipo de enfermedades.

El proyecto de investigación intelligent Brain Coach (iBC) tiene por objetivo buscar nuevas metodologías para la monitorización e intervención que ayuden promover este tipo de hábitos. El proyecto se está realizando en colaboración con la Barcelona Brain Health Initiative (BBHI) [3], cuyo objetivo es profundizar en el conocimiento sobre cómo los distintos pilares de salud cerebral ayudan a prevenir las enfermedades neuropsiquiátricas. Para ello, lleva a cabo un estudio longitudinal sobre una cohorte de más de 5.000 voluntarios con edades comprendidas entre 40 y 65 años.

En una primera fase de este proyecto se han analizado los datos de cuestionarios validados que recogen información de hábitos de vida y percepción subjetiva de salud para los pilares de salud cerebral definidos en el proyecto BBHI: Nutrición, Ejercicio físico, Socialización, Plan Vital, Salud general, Entrenamiento cognitivo y Sueño. También se han analizado las variables demográficas de la población del estudio para entender cómo se relacionan los distintos pilares y su importancia sobre la salud cerebral del individuo.

2. Materiales

Para realizar este estudio se han utilizado datos de cuestionarios anonimizados llevados a cabo por los voluntarios y voluntarias de la iniciativa BBHI. Estos cuestionarios han sido escogidos y validados por los expertos clínicos del Institut Guttmann y han sido respondidos desde una app de smartphone por los sujetos del estudio a lo largo de varios meses.

Debido al gran número de participantes (ver Tabla 1) y la naturaleza multimodal de este estudio (653 preguntas organizadas en bloques temáticos referentes a diferentes ejes de salud), se han obtenido una gran cantidad de datos con los que llevar a cabo este análisis.

	# Voluntarios	Edad media (Σ)
Mujeres	3.411	53.3 (7.3)
Hombres	1.687	54.3 (7.5)

Tabla 1. Descripción por sexo y edad de la población del estudio

Dado que los cuestionarios utilizados están validados clínicamente, se han reducido el número de variables a 29 marcadores, que aportan un valor numérico sobre el grado de cumplimiento de los hábitos de la persona en los diferentes bloques temáticos. Estos marcadores serán las piezas fundamentales sobre las que se sustenta el análisis de este estudio.

3. Metodología

En primer lugar, se ha realizado un análisis de las características sociodemográficas de nuestra población, con el objetivo de prevenir posibles sesgos cuando se discutan los resultados.

Una vez realizado este estudio poblacional, se ha llevado a cabo un análisis estadístico de los coeficientes de correlación de Pearson, que mide el grado de relación lineal entre dos variables, sobre los 29 marcadores y 5 variables sociodemográficas de nuestra población.

4. Resultados y discusión

Los resultados del análisis poblacional de nuestro estudio se muestran en la subsección 4.1. En el resto las subsecciones daremos una interpretación sobre las correlaciones consideradas más interesantes.

4.1. Estudio poblacional

Las cinco primeras variables que vemos en la Figura 1 representan la información sociodemográfica y el dato del índice de masa corporal de los sujetos del estudio. Los resultados del análisis poblacional se muestran en la Tabla 2.

	Edad	IMC	Nivel educativo	Nivel adquisitivo
Media	53.7	24.9	3.7*	2.8*
Σ	7.4	4.2	0.6	0.7

*medido sobre una escala del 1 al 4, donde 1 es el nivel más bajo y 4 el nivel más alto.

Tabla 2. Análisis sociodemográfico de la población

Como vemos, el IMC medio es muy cercano al considerado sobrepeso (25 kg/m²). El nivel educacional es especialmente alto entre nuestra población, ya que el valor 4 en la escala utilizada en este estudio representa educación superior (título universitario o superior). Finalmente, el nivel adquisitivo también es alto, siendo el valor 3 equivalente de esta escala a unos ingresos mensuales en el hogar entre 2000 y 5000€ al mes. Estudiar estos factores poblacionales es importante para considerar posibles sesgos cuando se analicen las correlaciones

4.2. Correlaciones de variables sociodemográficas

La correlación más alta (0.24) de este bloque se da entre el nivel de educación y el nivel adquisitivo. Esta relación se puede entender como que una educación superior mejora las expectativas económicas de los hogares. También resaltamos la relación positiva entre el IMC y la edad (0.14), que implica que a medida que aumenta la edad hay una tendencia al sobrepeso entre nuestra población, y la relación negativa (-0.21) entre el IMC y el género, que, en nuestro caso, representa que para nuestra población las mujeres tienen menor IMC que los hombres. Una de las correlaciones más directas de este bloque con el resto de los marcadores es la correlación positiva entre el nivel educativo y la reserva cognitiva (0.48), que es la más alta para ambas variables. El marcador de reserva cognitiva mide el trasfondo académico y las aficiones que tengan que ver con algún tipo de actividad cognitiva (leer, tocar música, etc...). Por tanto, la relación entre estos dos marcadores es naturalmente alta. También resaltamos las diferentes correlaciones que el alto nivel adquisitivo posee respecto a diferentes medidas del bienestar: salud general (0.22), salud mental (0.22), salud física (0.2), calidad de vida (0.24) y motivación (0.17). Esto implica que la bonanza económica tiene un impacto transversal positivo sobre la percepción de la salud.

4.3. Correlaciones de marcadores de salud general y bienestar

El bloque que ahora se analiza lo componen los seis primeros marcadores del bienestar, desde *0_global_health* hasta *5_diagnostics*, convenientemente nos referiremos a partir de ahora a los marcadores por el número que los acompaña al inicio de su nombre. Estos marcadores tienen que ver con la percepción subjetiva que tiene cada persona sobre su salud y el reporte de diagnóstico de enfermedades.

Observando la Figura 1, se aprecia que todas estas variables tienen una gran correlación entre sí. Por un lado, se debe a las relaciones intrínsecas que hay entre ellas, y por otro lado se debe a que las preguntas realizadas para medir estos marcadores son compartidas entre ellos, especialmente entre los marcadores 0, 1 y 2, que son los marcadores que representan cómo los voluntarios valoran su estado de salud general, mental y físico, respectivamente.

Si nos detenemos en el marcador de salud cerebral (marcador 1), se puede ver que tiene gran correlación con todos los marcadores que miden la motivación, la aflicción emocional de los voluntarios (marcadores 3, 4, 11, 12, 13) la calidad de vida (19), depresión ansiedad y estrés (21, 22, 23, 24). En menor medida, también se aprecia que este marcador de salud cerebral tiene una correlación con marcadores de sueño (9) y socialización (14, 16 y 26).

Al ser este marcador una medida de la percepción subjetiva de las personas sobre su salud cerebral, estas correlaciones nos permiten entender los principales factores que hacen que una persona piense que no goza de una salud mental plena. La falta de motivación, el dolor afectivo y en general la ansiedad, depresión y estrés parecen contribuir más que la falta de sueño, socialización, motivación en la vida y aflicción mental a la percepción de falta de salud mental de las personas.

Para terminar este bloque, se analizarán las correlaciones del marcador 5_diagnsostics, que hace referencia a si se padecen o no algún tipo de enfermedad diagnosticada. Como es esperable, padecer enfermedades afecta negativamente a la mayoría de los indicadores sobre salud general, calidad de vida o sueño. Sin embargo, es interesante apreciar que la correlación de este marcador es

mayor sobre la aflicción emocional (-0.26) o el de depresión, ansiedad y estrés (-0.24) que sobre la percepción de salud mental de los voluntarios (-0.21). Este resultado enseña que padecer enfermedades tiene un

efecto negativo muy relevante sobre el estrés, la ansiedad y la aflicción emocional, incluso mayor que sobre la percepción de cada persona sobre su salud.



Figura 1: Matriz de correlación entre variables del estudio. En esta matriz observamos por filas, el valor de correlación entre cada una de las variables con el resto de las variables por columnas, o viceversa. El valor de la correlación entre dos variables no puede ser mayor que 1 ni menor que -1, donde la correlación o anti-correlación es completa.

4.4. Correlaciones de marcadores de nutrición, sueño y ejercicio

Se analizarán ahora en los marcadores de sueño (9, 25), alimentación y malos hábitos (7, 8, 10) y ejercicio (6, 27).

Podemos ver que ambos marcadores de sueño tienen una correlación alta con las variables de estrés ansiedad y depresión (entre 0.38 y 0.46), así como con las variables de salud general (entre 0.35 y 0.40). Este resultado se

puede interpretar como que la falta de sueño afecta a una gran cantidad de factores del bienestar, o bien como que diferentes tipos de problemas en la salud afectan negativamente a la calidad del sueño.

La alimentación y los malos hábitos (alcohol y tabaco) no tienen una gran correlación con el resto de los marcadores. Este es un resultado llamativo, sobre el que se deberá hacer un análisis más exhaustivo. Una posible causa de este resultado podría ser que partimos de una población sesgada respecto a estas medidas, es decir, que poseamos pocos datos porque no haya un gran número de personas que tengan estos malos hábitos respecto al conjunto de nuestra población.

Finalmente, los marcadores referentes al ejercicio físico muestran una correlación positiva con las variables de salud general y bienestar (entre 0.14 y 0.29), así como una correlación alta con la calidad de vida (marcador 19) y la medida de ansiedad, depresión y estrés (marcador 21), con valores de 0.22 y 0.15 respectivamente. Al igual que el sueño, este resultado permite una interpretación doble. Por un lado, la calidad de vida y el bienestar permiten gozar de más tiempo que invertir en practicar ejercicio. Por otro lado, realizar ejercicio es uno de los factores que se ha estudiado que mejor afecta a muchas áreas de la salud.

4.5. Correlaciones de marcadores de sociabilidad, calidad de vida, motivación, depresión, ansiedad y estrés

Los últimos marcadores que nos quedan por analizar son los referentes a la sociabilidad (14 y 26), calidad de vida (15, 16, 19 y 28), motivación (11, 12, 13, 17 y 18), depresión, ansiedad y estrés (21, 22, 23 y 24).

Vemos que para los marcadores de socialización existe una diferencia significativa entre géneros, habiendo una correlación relativamente alta (0.14 y 0.19) entre ser mujer y tener una socialización plena, medida por los marcadores 14 y 26. De nuevo, esto se puede tratar de un sesgo poblacional.

Además, apreciamos una gran correlación entre la socialización y el bloque de variables de salud general, siendo especialmente alta la correlación con la salud mental, la motivación y calidad de vida. Esto se puede interpretar como que una socialización plena hace que las personas tengan una percepción más positiva sobre su salud, su situación material y su motivación.

Los marcadores de calidad de vida miden la percepción subjetiva de la persona sobre las condiciones materiales, personales y afectivas que le rodean (marcador 19), la conformidad que tiene dicha persona con el contexto físico que le rodea (marcador 16), la facilidad y autonomía que tiene para realizar tareas rutinarias (marcadores 15 y 28). Estos marcadores, exceptuando el 28, tienen unas altas correlaciones con los bloques de salud general y motivación, como ocurre con casi todos los marcadores del estudio. Cabe destacar la enorme correlación (0.61) que existe entre la calidad de vida y la salud mental. Como ya se ha puntualizado antes, gozar de una calidad de vida alta hace que se tenga una mejor percepción de la salud mental que se posee.

Los marcadores de motivación, como ya hemos visto, guardan correlaciones altas con los marcadores de calidad de vida, siendo especialmente altos los valores de los marcadores 11, 12 y 13, que miden diferentes percepciones sobre las metas vitales a medio plazo, o el compromiso que se tiene con la vida, con los marcadores 16 y 19 que miden la calidad de vida. Esta relación indica que la conformidad con el entorno en el que uno vive ayuda a que se tenga un mayor compromiso y una mayor motivación con la vida.

Cabe destacar también, las altas correlaciones que tienen todos los marcadores de este bloque con el bloque de salud general. Indicando que la motivación con la vida puede hace que las personas tengan gocen de una mejor salud o que al menos piensen que gozan de ella.

Para finalizar el análisis de resultados, remarcamos que para las variables de depresión, ansiedad y estrés se marca una notoria banda azul en la Figura 1, esto muestra de una manera muy visual las consecuencias negativas que pueden tener estos tres problemas con la mayor parte de los pilares de salud cerebral. Cabe destacar las grandes correlaciones de este bloque con los marcadores de calidad de vida, salud mental percibida, aflicción emocional y sueño. Este resultado es importante ya que enseña que el estrés, la ansiedad y la depresión son fundamentales en las percepciones de las personas sobre su salud y en especial sobre su salud cerebral.

5. Conclusiones

En este trabajo se han analizado las relaciones existentes entre pilares de salud cerebral desde un punto de vista estadístico. Gracias al gran número de variables presentes en este estudio, se han descubierto relaciones que a simple vista no podrían parecer tan evidentes, como padecimiento de enfermedades con la aflicción emocional o la percepción de la salud mental con la calidad de vida o la motivación.

Por otra parte, se ha conseguido valorar de un modo más preciso otras muchas relaciones que resultan más intuitivas, como la relación entre la depresión, ansiedad y estrés con los problemas de sueño.Estos análisis servirán como base para realizar futuras investigaciones del proyecto iBC: la segmentación de sujetos, el reconocimiento de patrones de comportamiento o el motor de recomendaciones para promover los hábitos saludables.

Agradecimientos

Parcialmente financiado por FEDER/Ministerio de Ciencia, Innovacion y Universidades– Agencia Estatal de Investigación/ Proyecto DPI2017-86088-C3-1-R.

Referencias

- Mathers, C.D., and Loncar, D.(2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. PLoS Med. 3:e442. doi: 10.1371/journal.pmed.0030442
- [2] Beason-Held, L. L., Goh, J. O., An, Y., Kraut, M. A., O'Brien, R. J., Ferrucci, L., etal. (2013). Changes in brain function occur years before the onset of cognitive impairment. J. Neurosci. 33, 18008–18014. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1402-13. 2013
- [3] Cattaneo, G., Bartrés-Faz, D., Morris, T.P., Sánchez,J.S., Macià,D., Tarrero,C., et al. (2018). The barcelona brain health initiative: a cohort study to define and promote determinants of brain health. Front. Aging Neurosci. 10:321. doi:10.3389/fnagi.2018.00321

Design and implementation of a video-consulting and messaging platform based on WebRTC

F. J. Gárate¹, N. García¹, P. Sánchez-González¹, P. Chausa¹, F. García³, Jennifer Whetham⁴, Enrique J. Gómez^{1,2} and the EmERGE Consortium

¹ Biomedical Engineering and Telemedicine Centre, ETSI Telecomunicación, Center for

Biomedical Technology, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain fgarate/psanchez/pchausa/egomez@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Madrid, Spain

³ Hospital Clinic, Barcelona, Spain, fgarcia@clinic.cat

⁴ Dpt of HIV/Genito-Urinary Medicine, Brighton and Sussex University Hospitals NHS Trust, UK, j.whetham@nhs.net.

Abstract

The increase in life expectancy and the related rising of chronic diseases has resulted in the saturation of European healthcare systems. eHealth and mHealth technologies place at the disposal of the healthcare community various potent tools to improve patient care. Specifically, telemedicine tools facilitate remote patient monitoring by healthcare providers reducing face-to-face appointments. These tools can help in the management of chronic conditions, lowering pressure on clinics, reducing waiting time for patients and speeding up treatment delivery processes. In this regard, this research work proposes a mHealth platform based on WebRTC to communicate via videoconference and messaging, patients with their healthcare providers. The platform will be further adapted and validated in the context of the EmERGE project, a five-year Horizon 2020 funded project that proposes a new clinical pathway to facilitate patient empowerment and selfmanagement of HIV while reducing face-to-face consultations for people living with stable HIV.

1. Motivation

Nowadays, health professionals are calling for greater investment in prevention and primary care in order to ensure a sustainable future. The primary objective is to reduce the number of times a patient goes to a consultation and to concentrate the quality of face-to-face encounters. As a consequence, this would help to alleviate the oversaturation of healthcare systems, which will be aggravated in the coming years by the natural ageing of the population and the increase in the treatment of certain diseases.

The relevance of technology in healthcare is evident. A report by PriceWaterhouseCoopers stated that technology promotes a 30% return of investments in this economic sector, as well as an enhancement in quality of patient's life [1]. Findings from mHealth intervention studies for chronic disease management have shown promising aspects, particularly in improving communication between patients and healthcare providers [2]. In this regard, a global market research conducted by the American consulting firm Tractica forecasts a sustained growth in the number of video consultations of 34% with 158 million sessions in 2020 [3].

This research work describes the design and implementation of a mHealth system based on WebRTC to communicate via videoconference and messaging, patients with their healthcare providers. The system has been proposed with the objective of decreasing face-to-face visits and thus, lower the pressure on healthcare systems and improve the care provided.

In order to better fulfil the objectives of this research, a revision of the state of the art has been performed. Figure1 shows teleconsulting platforms currently available in the market. The strengths and limitations of these products have been analysed and the most important features identified. Three features are covered by all the solutions: videoconsultation, messaging system and citation service. OmniDoctor only covers these three features while Sanitas and IMQ applications include the whole set of functionalities: calendar, online prescriptions, access to medical history and even healthy living programs.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Sanitas	V	V	V	V	V	V	V	V
IMQ	V	V	V	V	V	V	V	V
Docline		V	V	V	V	V		
OpenSalud		V	V		V	V		
Doc24	V	V	V	V	V			
OmniDoctor		V	V		V			
VIDA	V	V	V	V	V	V		
AmericanWell	\checkmark	V	V		V	V		
Babylon	V	V	V	V	V	V		

Figure 1 - Comparison of available solutions.Features: F1-Available for mobile and desktop; F2-Videconsulting; F3-Messaging; F4-Calendar of appointments; F5-Citation services; F6-Online recipes; F7-Medical history reports; F8-Special programs

2. Materials and Methods

The videoconference system proposed is based on WebRTC and OpenVidu technologies. WebRTC is a free and open project that provides browsers and mobile applications with Real-Time Communications (RTC) capabilities via simple APIs. It makes audio and video communication to work inside web pages by allowing direct peer-to-peer communication, removing the need to install plugins or download native apps. OpenVidu is a platform aimed at simplifying the incorporation of video calls in web and mobile applications. To facilitate the development of the system, a WebRTC media server has been used: Kurento Media Server. Kurento is responsible for media transmission, processing, recording, and playback and, among its features stand out the possibility of making group communications as well as other actions such as transcoding, recording, mixing, broadcasting and routing of audiovisual flows.

Node.js has been used for developing the back-end of the web platform and Angular 7 for the front-end. Node.js is an open-source, cross-platform JavaScript run-time environment that executes JavaScript code outside of a browser. Angular is a platform and framework for building client applications in HTML and TypeScript created by Google. It is free and open source and its aim is facilitate the creation of modern web applications of SPA type (Single Page Application).

In the case of the mobile app, the main technologies used have been Ionic 4, Angular 7 and Cordova. Ionic Framework is a complete open-source mobile UI toolkit for developing high-quality cross platform apps for native iOS, Android and the web, using web technologies. Ionic is based in Apache Cordova, an open source mobile development framework, which allows Ionic to build and deploy as a native app. The core of Cordova applications uses CSS3 and HTML5 for their presentation and JavaScript for the logic. HTML5 provides access to the underlying hardware of the mobile phone.

Heroku and MongoDB are the web services employed for the data management. Heroku is a cloud platform as a service based on a managed container system, with integrated data services and a powerful ecosystem, for deploying and running modern apps. This cloud platform facilitates the future implantation of the system in different locations. MongoDB is a NoSQL database system for open source documents. MongoDB save BSON data structures in a dynamic schema, making the integration of information quick and easy. MongoDB allows to easily organize, use and enrich data in real time and anywhere. Moreover, it provides precise control of where data is placed so fast performance is ensured as well as the compliance with regulations. Finally, Visual Studio Code and Postman has been used for coding and testing respectively.

3. Results

A video-consulting and messaging platform based on WebRTC has been designed and implemented in order to communicate healthcare providers with their patients. This multiplatform has been developed for different use cases and for being used through computer or mobile phone.

3.1. Functional and non-functional requirements

The following **functional requirements** have been identified (Table 1).

Table 1 - Functional requirements

Functionality	Description
Registration	Users required to register so it can be controlled who access the system. The role of the user will be specified: patient/doctor

Authentication	Users are required to login to the application on each use through username and password.			
Video- conference	Patients able to initiate a videoconference only the days they have previously fixed appointments while the doctors will access the videoconferences when the patients have already start them. Only doctors can start the videoconsultation when they are ready			
Messaging	Conversations only between two parts, a doctor and a patient. Doctors are the only ones who can start and delete conversations; once they have been initiated, patients are able to send any message at any time			
Read/unread messages	Checking system to indicate if the sent messages have been read by the receiver. If the user has unread messages, a notification will appear on the main page			
Calendar	Visualization of next appointments.			
Storage	All the data (users data, messages, appointments) stored in a cloud database that will be only available for specific medical staff			

The properties and characteristics required are listed in the following **non-functional requirements** (Table 2):

 Table 2 - Non-functional requirements

Requirement	Description
Usability	Easy to be used and learnt, easy to be remembered, efficient and able to generate satisfaction in the users. Intuitive interfaces, readable and adapted to users and different web browsers
Adaptability	Platform thought to be introduced in the system of different hospitals. It must be easy to implement and easy to readapt to different characteristics
Scalability	System prepared for the acquisition of new functionalities with minimum change requirements
Security	Information sent in a secure way. Stored data only accessible by authorized health staff. System only accessible to registered and validated users
Performance	The response time in operations must be the expected time of any web application

3.2. Use cases

The following use case diagram represents the interaction of the users with the system for both desktop and mobile phone application.



Figure 2 - Use case diagram

3.3. **System Architecture**

The architecture of the proposed multiplatform is represented in Figure 3. It shows that the activities of the different actors take place independently without the need of being connected to the same local area, but by being connected to internet whenever they want to perform any action. Nevertheless, in order to start a videoconference it is required that both parts, patients and doctors, are using the platform at the same time.

As illustrated in the figure, the system follows a clientserver architecture model and will consist of five main components: a browser platform, a mobile phone application, a database accessed through the system server (API REST) and the server for the videoconference (Kurento).



Figure 3 - System Architecture

Doctors access the platform from their desktop while patients can do it as well, or access directly from the mobile application. The communication with the database in MongoDB is established through the API REST associated with the platform in the browser and the mobile phone application. Due to this relation the different operations of authentication of users, send and receipt of messages, consult of appointments and videoconferences are performed. This requires the integration of the OpenVidu application in the system and a connexion with Kurento servers.

3.4. User's interfaces

The Nielsen's ten heuristic principles has been used [4] to ensure the usability of the user's interfaces. This section shows some of the interfaces related to the most relevant functionalities of the system.

Main screen

The main screen is the principal screen of the platform and it is different depending on the role of the user. Its main purpose is to allow the user to select the action he/she wants to perform: to show the appointments scheduled, to establish a videoconference and to access the conversations.



Figure 4 – Professional main screen

There is a navigation bar in the top of every screen composed by two buttons: a house, which redirects to the main screen, and a logout button for leaving the platform.

Conversation and messages screen

The purpose of the conversation screen is to show the list of conversations of the user. Conversations are identified with a title and a warning message appears if there are new messages. Patients can just perform one action in this page, access a conversation, while doctors have three options: access a conversation, delete one conversation, or initiate a new one.

CONVERSARCIONES		
CONVERSARCIONES		
Paciente: Rodrigo Vega, Problema: Control diabetes	Ver 🗲	Eiminar 🛢
Paciente: Alfonso Calvo, Problema: Alergia <mark>Nuevos mensajes!</mark>	Ver 🌖	Elminar
Paciente: Laura Sänchez, Problema: Rotura hombro	Ver 🌖	Eiminer 🛢
Paciente: Victor Ruiz, Problema: Control obesidad	Ver 🤿	Elminar 🕯
Paciente: Verónica Rodriguez, Problema: Recuperación ataque corazón	Ver 🌖	Eiminar
lueva conversación		
Seleccionar paciente		
Titulo		
Paciente: Francisco, Problema: Dabetes		
fensaje		
Mensaje		



Figure 5 - Professional conversations screen



Figure 6 - Patient conversations and message screen

Connected patients screen and videoconference

The connected patients screen is only available for doctors. In this screen, the patients connected to the videoconference are shown as can be seen in Figure 7. Next to all patients, there is a button for accessing the videoconsultations, only enabled for those connected patients. A videoconference room screen has been created in order to establish the required configurations previous to the videoconsultation. Users can select the camera and microphone. In addition, the doctors have a panel with information about the patient and the reason for the consultation. By clicking into the 'Iniciar videoconferencia' button, users initiate the session and are redirect to the videoconference.



Figure 7 - Professional connected patient screen and videconference room

The videoconference screen for the desktop shows the screen divided in two parts, each of them for displaying the camera of the two users. In the top, several options appear: two buttons for enabling or disabling the microphone and the camera, one button for full screen, one for leaving the videoconference and redirect the user to the main screen of the platform, and one for starting a conversation. This last button is mainly thought for chatting in case there is any problem with the camera or the microphone. In the case of the mobile app, the videoconference screen is simpler. It just has the screen divided in two showing the participants of the conversation and its username and a button for leaving the session.



Figure 8 – Professional&Patient Videconference screen

4. Conclusions and Future Lines

A video-consulting and messaging platform based on WebRTC has been designed and developed for being used through the desktop and the mobile phone. A technical validation has been carried out with the aim of ensuring that the system developed conforms to the requirements under which it was designed.

One of the main problems faced while developing the system was the integration of the OpenVidu architecture into our system since it is common model. In order to overcome the problem, it was necessary a deep understanding of how it internally works and the connections that it establishes. Thanks to this, the videoconference was changed and adapted to our requirements. While performing the state of art research, it was found that people was reluctant to use this type of technology due to the distrust they generate. Firstly, because the information is shared in the net and secondly because doctors are afraid of being overwhelmed by patient requests. Therefore, we can conclude that it is clearly necessary to establish well defined limits for the use of these applications.

The system developed opens the possibility for several future lines. The main one is performing a clinical

validation by deploying it in different hospitals to check the quality of the communication and the end user's acceptability. The clinical validation will be done in the context of the EmERGE project [5], a Horizon 2020 funded project that proposes a new clinical pathway to facilitate patient empowerment and self-management of HIV while reducing face-to-face consultations for people living with stable HIV.

Regarding enhancement of the system, different functionalities can be further explored: (1) inclusion of a share screen option in the videoconference, so that doctors can present results or other medical documents to the patients and vice versa; (2) addition of the screen recording option in the videoconference; (3) improvement of the videoconferencing and message exchange system, so the communication can be established between more than two people and (4) allow users to include their own appointments in the calendar.

Acknowledgements

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 643736. The dissemination activities within the EmERGE project do not represent the opinion of the European Community and only reflects the opinion of the authors. The scientific members of the EmERGE consortium are: J.Whetham, D.Fatz, G.Weir, Brighton and Sussex University Hospitals NHS Trust, UK; M.Borges, G.Rodrigues, A.Cunha, Centro Hospitalar De Lisboa Central, EPE, Portugal; C.Fisher, S.Beaumont, EmERGE mHealth Ltd, UK; B.West, M.Dutarte, A. I. von Lingen, F.Greenhalgh, K.Block, European Aids Treatment Group, Belgium; F.Garcia, D.Garcia, R.Muñoz Pina, A.Leon Fundacio Privada Clinic Per A La Recerca Biomedica, Spain; L.Apers, L.Mertens, S.Hoornaert, Institute of Tropical Medicine Antwerp, Belgium; J. Begovac, S.Zekan, I.Benkovic, Klinika Za Infektivne Bolesti Dr. Fran Mihaljevic, Croatia; J.Wyatt, M. Fraser, Modus Research and Innovation, UK; E.Beck, S. Mandalia, P.Yfantopoulos NPMS-HHC CIC, UK; E.J. Gomez, P.Chausa, F.J. Gárate UPM, Spain; F.Henwood, M.Darking, B.Marent, University of Brighton, UK; S.Bremner, C. Jones, University of Sussex, UK

References

- [1] Aportación de valor de las tecnologías en el sector sanitario. PriceWaterHouseCoopers. 2014. Accessed September 2019
- [2] Lee JA, Choi M, Lee SA, Jiang N. Effective behavioral intervention strategies using mobile health applications for chronic disease management: a systematic review. BMC Med Inform Decis Mak. 2018;18(1):12. Published 2018 Feb 20. doi:10.1186/s12911-018-0591-0
- [3] Empleo en salud. UNIR. 2018. <u>https://www.unir.net/wpcontent/uploads/2018/03/informe-infoempleo-unir-empleosalud.pdf</u>. Accessed September 2019
- [4] Jakob Nielsen. 1994. Heuristic evaluation. In Usability inspection methods, Jakob Nielsen and Robert L. Mack (Eds.). John Wiley & Sons, Inc., NY, USA 25-62.
- [5] <u>https://www.emergeproject.eu/</u> Accessed September 2019.

Indoor Guide System developed for Visually Impaired People

J. Arranz Sanz¹, M. Jaén Vargas¹, J. Serrano Olmedo^{1,2}

¹Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, <u>eglance@ctb.upm.es</u> ²Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, (CIBER-BBN), Madrid, España

Abstract

This project is aimed to cover the visually impaired people need regarding their "first visit" to a new environment and increase their autonomy. Nowadays, the idea of a visually impaired person going on his own to a new place is unfeasible due to self-security lack.

The main purpose of this project is to develop a guidance system for visually impaired people so they familiarize with a new environment relying only on technology without the need of any external support (besides the blind cane). The objective is to guide the user by the means of previously recorded "waypoints" creating a recognizable path by computational means in order to guide the user accordingly.

Regarding technologies used in the project, Unity will be the base SDK to develop an Augmented Reality solution. The tests will be conducted in a smartphone platform with accelerometer, gyroscope and camera.

1. Introduction

According to The World Health Organization (WHO) around 285 million people suffer from some type of disability; at least 39 million are blind, and 246 have low vision [1].

From a social point of view, currently, there is a line of thought based on the idea that everyone should have the same possibilities to live with dignity and take their own vital decisions disregarding their gender, age, physical or psychological capabilities and culture. This current is known as "Design for All" and empowers a change in the mentality of most industry professionals in charge of the design and construction of the facilities (including products and services) to be used by people.

Giving this "Design for All" doctrine, this project aims to solve the real need that visually impaired people have to adapt to internal distribution of a building, easily and efficiently. Despite this adaptation, in some cases, would be possible to be done by the means of constructing physical infrastructures, in most of the cases, the cost in resources is too high to be affordable by the owner of the building, resulting in a decrement in quality of life for blind people.

Normally, when a visually impaired person wants to go to unexplored places such as museums, public buildings, etc. he has to rely on external help. This help is provided by a person or a trained dog able to guide him. Although, there are volunteers that play this role their availability is limited; consequently, visually impaired people's autonomy is reduced. Furthermore, the option of a human being with visual impairments going to a new place on its own, using as only support a white cane would be an unviable solution, due to the lack of self-security [2].

For this reason, we have focused this project on visually impaired people need to cover their "first visit" to a new environment in order to increase their autonomy. The target is to develop a guidance system for them so that they are familiar with any new environment that depends solely on technology without the need for any external support, besides the blind cane [3]. Technically speaking, we are going to guide the user through "waypoints" previously registered within a virtualized particular building, taking into account a recognizable path through computational means to guide it accordingly.

2. Materials

Our study is mainly composed of three technologies: first of all, Unity [4-5], used as base SDK for developing the mobile application that will be tested in a smartphone. This device integrates all the technical resources required for the project such as accelerometer, gyroscope and camera among others. Secondly, software frameworks, that use Augmented Reality (AR) and Virtual Reality (VR) being: ARKit [6-8] and ARCore [9-12] used to recognize landscapes and to guide the user as accurately as possible. Thirdly, 3D bone conduction headphones used across all the stages to keep the freedom of the user and avoid the blockage in hearing sense.

In addition, we have chosen iOS smartphones to run this application instead of another mobile because of two main reasons: the majority of people with visual impairments prefer this operating system in particular [13] and the features offered by Apple like its native ARKit SDK, as well as, the hardware elements: camera, gyroscope, and accelerometer.

3. Methods

We have set up this solution in three sides: a client side, a middleware layer and a Placenote SDK [14] side. The elements of the architecture are described in Figure 1 below.



Figure 1. AR Architecture Design

<u>Client-side</u>: There is a *Mobile Phone* that represents the needed to provide input data and signalling. In this case, it would be the iPhone mobile phone. Also, a *Visual Recognition* indicates the native software recognition connection between the device and the ARKit SDK. Besides an *ARKit Processing* element which is native to Apple software and control the AR surface recognition and processing in order to work properly with this information afterwards.

<u>Middleware layer transversal to both sides</u>: The *API Management* works as a controller that establishes and ordered data flow between the client and server-side organizing and elaborating the information needed for each side. In the case of the project, it is the Unity 3D customized API developed in the own project.

<u>Placenote SDK side</u>: Includes a *Metadata Storage that* holds all the technical information needed to differentiate all the stored maps one another, a *Map Storage* that stores several tracking anchors to be able to identify the user's spatial position inside a specific map and, the last one, a *Waypoints Storage* that stores the relevant data to place the different waypoints in the map that mark a specific pathway.

All components together operate following this sequence: a blind person enters to a new room that it was not before. This room has been previously virtualized and maps were created to generate waypoints to support the guidance. When the application starts we have checked that the blind person is ready with bone headphones to follow 3D sounds. Then we put a target and the person will chase it following the instructions that are spoken through the app evading static obstacles.



Figure 2. Waypoint Path Demo

4. Results

In order to present accurate and clear information about the results obtained inside this category, an election of several aspects to compare and quantify was made. This collection of aspects was decided taking into account the most relevant factors for the final users: usability, adaptability, accuracy and minimal social impact of the solution. The list of aspects object of testing is the following:

- □ Accuracy in route definition: This aspect represents the deviation of the waypoints taking into account their desired position against the stored position and, later on, their reallocation in the map once loaded.
- Precision in guidance instructions: In this case, what is measured is the gradient difference between the acoustic beeps that indicate the direction to follow and its real position in the virtual space.
- Portability across different devices: This category encloses the possibility to deploy the system implementation across different mobile platforms.
- □ Social impact of the solution: This represents the degree of undesired attention on the user that the solution may evoke.
- □ User interface adaptation: This aspect evaluates the amount of training that is needed by the user in order to use the application correctly.

Following, for comparative purposes with current State of Art and the project, a table has been done to include the positive (+) and negative (-) features each solution has against the rest taking into account the previously mentioned aspects. The table shows one row for each evaluated aspect and two columns: the first one for the current State of Art based in several similar solutions [15-17] and the second column related to the current AR system being developed.

Features	State of Art	Project AR System
Accuracy in Route	(+) Range mm to cm.(-) Need extra input besides the camera.	(-) Tens of cm.
Precision in Guidance	(+) Relies on beacons.(-) Needs external infrastructure.	(+) Automatic step by step guide.(+) Easy mapping.
Portability	(-) Most use non-standard devices.	(+) Uses a wide support platform.
Social Impact	(-) Most use uncomfortable wearables such as harnesses.	(+) Only uses a mobile phone as support.
User Interface	(-) Interface demands higher mental workload due to keyboard input.	(+) Maximum mobility with minimal impact due to easy interface use.

Table 1. Application Results

As this is only a comparison between our solution and the current State of Art, an open discussion point is that we should confront our prototype directly with the current State of Art solutions (if available) to confirm the previously mentioned theoretical results. Furthermore, the system needs to conduct several tests to validate its proper behaviour in worst-case scenarios.

5. Conclusions

To summarize the results already presented, we can conclude that there is still work to be done along this research and development line. Although we have obtained a tool useful for blind people in order to provide accurate indoor navigation, it is needed to attack the problem of robustness and object avoidance in real-time.

Equally important is that this project fulfils the initial expectations of guiding a visually impaired person inside a delimited area (room, museum, public building...) new for him. Also, provides an acoustic guidance system as well as the possibility to create a way between any two previously recorded waypoints.

Furthermore, to follow the "Design for All" doctrine, the starting point has to be set chronologically before the entrance to the labouring world while the mind of the future professional is still malleable and eager to learn. According to this fact, the optimal point to start nurturing the mind should be during the upper academic studies stage, while the basic academic knowledge has already been established but the mind is still in process of learning new methodologies and concepts.

Overall, regarding the working range of the solution, it is needed an active wireless internet connection for the proper function of the guidance. Additionally, the pathway algorithm used is optimized to get the shortest way from the initial point to the destination due to the implementation of an A* algorithm.

6. Future Lines

First of all, to confirm the results and validity of the project it is needed to conduct a test process in a real scenario with potential users. For that purpose, we suggest an initial test group of 20 users in a controlled small preset scenario to get the staging results. This scenario would be populated with several physical obstacles resembling different types of furniture. Afterwards, the user will test the application navigating through a previously recorded path following the route instructions given. The results of the test will be obtained by a satisfaction survey where the user rates different aspects of the application. Taking into account the results obtained in this experiment, we could escalate this process and test it in a real case indoor scenario in a museum or public building.

Particularly, the device can be improved by adding an Artificial Intelligence agent that could detect any obstacle potentially harmful for the user and give the proper adjustments to the current pathway in order to avoid it. This future line is a key element to improve the robustness and reliability of the solution. In fact, nowadays, there is an increased awareness and research in autonomous system fully driven by AI (autonomous trucks and cars, fully independent logistic transport robots and drones...) that could be used to empower the investigation in this characteristic project.

Finally, in order to give to the solution more autonomy, a new system that could store the information related to the maps and waypoints of the different buildings without relying on an internet connection, would be a great improvement for the project. Moreover, the interface could be adapted respectively, following the guidelines from users' feedback given after various conducted testing sessions.

Acknowledgements

This project has been supported by Fundación ADECCO, ONCE, Fundación ONCE and INDRA Sistemas, S.A. (https://www.tecnologiasaccesibles.com/es).

References

[1] Pascolini D, Mariotti SPM. Global estimates of visual impairment: 2010. *British Journal Ophthalmology Online* First published December 1, 2011 as 10.1136/bjophthalmol-2011-300539.

[2] Cobo, Antonio & Guerron, Nancy & Martín, Carlos & Del Pozo Guerrero, Francisco & Serrano Olmedo, José. (2017). Differences between blind people's cognitive maps after proximity and distant exploration of virtual environments. *Computers in Human Behavior*. 77. 10.1016/j.chb.2017.09.007.

[3] Guerron, Nancy & Cobo, Antonio & Serrano Olmedo, José & Martín, Carlos. (2020). Sensitive interfaces for blind people in virtual visits inside unknown spaces. International *Journal of Human-Computer Studies*. 133. 13 - 25. 10.1016/j.ijhcs.2019.08.004.

[4] Technologies, "Unity - Multiplatform - VR-AR - Unity," Unity Technologies, [Online]. Available: https://unity3d.com/unity/features/multiplatform/vr-ar. [Accessed 2019].

[5] Unity Technologies, "Unity Real-Time Development Platform | 3D, 2D VR & AR Visualizations," Unity Technologies, [Online]. Available: https://unity3d.com/unity. [Accessed 2019].

[6] Apple Inc., "Augmented Reality - Apple," Apple Inc., [Online]. Available: https://www.apple.com/es/ios/augmentedreality/. [Accessed 2019].

[7]. Axon, "How ARKit 2 works, and why Apple is so focused on AR | Ars Technica," Condé Nast, [Online]. Available: https://arstechnica.com/gadgets/2018/06/arkit-2-why-apple-keeps-pushing-ar-and-how-it-works-in-ios-12/. [Accessed 2019].

[8] Apple Inc., "Augmented Reality - ARKit 3," Apple Inc., [Online]. Available: https://developer.apple.com/augmentedreality/arkit/. [Accessed 2019].

[9] Google Ireland Limited, "AR Core - Google Developer," Google Ireland Limited, [Online]. Available: https://developers.google.com/ar/. [Accessed 2019].

[10] Google Ireland Limited, "AR Core - Google Developer -Discover," Google Ireland Limited, [Online]. Available: https://developers.google.com/ar/discover/. [Accessed 2019].

[11] Google Ireland Limited, "AR Core - Google Developer -Quickstart iOS," Google Ireland Limited, [Online]. Available: https://developers.google.com/ar/develop/unity/quickstart-android. [Accessed 2019].

[12] Google Ireland Limited, "AR Core - Google Developer -Concepts," Google Ireland Limited, [Online]. Available: https://developers.google.com/ar/discover/concepts. [Accessed 2019].

[13] J. Morris and J. Mueller, "Blind and Deaf Consumer Preferences for Android and iOS Smartphones," Cham, 2014: Springer International Publishing, in Inclusive Designing, pp. 69-79.

[14] Placenote, "Placenote | Build Persistent AR apps" Placenote, [Online]. Available: https://placenote.com/. [Accessed 2019].

[15] A. Hub, J. Diepstraten and T. Ertl, "Design and development of an indoor navigation and object identification system for the blind," in *Proceedings of the 6th international ACM SIGACCESS conference on Computers and accessibility (Assets '04)*, New York, NY, USA, 2003.

[16] L. Ran, S. Helal and S. Moore, "Drishti: An integrated indoor/outdoor blind navigation system and service," in *Second IEEE Annual Conference on Pervasive Computing and Communications, PerCom. 23- 30*, Orlando, FL, USA, USA, 2004.

[17] S. Chumkamon, P. Tuvaphanthaphiphat and P. Keeratiwintakorn, "A blind navigation system using RFID for indoor environments," in 5th International Conference on Electrical Engineering/Electronics, Computer, Telecommunications and Information Technology, Krabi, Thailand, 2008.

Aplicación de la espectroscopía de reflectancia difusa a la caracterización de tejidos biológicos ex-vivo

J. L. Arce-Diego, S. Pampín-Suárez, F. Fanjul-Vélez

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, <u>fanjulf@unican.es</u>, <u>arcedj@unican.es</u>

Resumen

La espectroscopía de reflectancia difusa (DRS) es adecuada para aplicaciones biomédicas, ya que puede trabajar con tejidos biológicos en reflexión, reforzando el carácter no invasivo de la técnica. La DRS se ha empleado para la detección de tejido maligno y también para la discriminación de tejidos sanos. Estas aplicaciones requieren una definición adecuada de biomarcadores potenciales para los algoritmos de clasificación. El proceso de clasificación depende en gran medida de la cantidad de espectros medidos y la variabilidad del tejido y la muestra. En este trabajo, mediante DRS se caracterizan diferentes tipos de tejidos porcinos ex vivo. Las medidas espectrales se realizan sobre diferentes muestras y en diferentes puntos de cada muestra. Los espectros se normalizan y se aplican varios algoritmos para la reducción de la dimensión y la variabilidad, como el análisis de componentes principales o el filtrado de Savitzky-Golay. A partir de estos espectros, se proponen varios biomarcadores para la clasificación de tejidos y se aplican diferentes clasificadores. Se comparan los resultados y se cuantifica la eficiencia de clasificación. Los enfoques considerados podrían ser de particular interés en la cirugía guiada por imagen u otros tipos de aplicaciones de biopsia óptica.

1. Introducción

La caracterización biológica de los tejidos puede abordarse mediante técnicas ópticas no ionizantes, de forma no invasiva y sin contacto. La caracterización óptica puede implementarse mediante diferentes técnicas de diagnóstico óptico, como la tomografía de coherencia óptica (OCT) [1] y sus variantes [2], espectroscopía [3], fluorescencia [4] o incluso polarimetría [5]. La espectroscopía en sus diversas modalidades proporciona en general contraste específico de tejido a nivel molecular. La espectroscopía de reflectancia difusa (DRS) es particularmente adecuada para aplicaciones biomédicas, ya que puede trabajar con tejidos biológicos en reflexión, reforzando el carácter no invasivo de la técnica [6]. DRS es una técnica asequible capaz de proporcionar datos sobre la morfología y / o funcionalidad de los tejidos. DRS se ha aplicado principalmente para la detección de tejidos cancerosos [4], pero puede aplicarse clínicamente en problemas de clasificación general, por ejemplo, en el diagnóstico de patologías. De esta manera, cada muestra se clasifica como tejido sano o enfermo. La discriminación del tipo de tejido puede implementarse en ciertos casos [7]. Las clasificaciones estadísticamente significativas están respaldadas por mediciones espectrales masivas de cada clase. Esas mediciones provienen de diferentes muestras del mismo espécimen y de diferentes especímenes. Este hecho conduce a la variabilidad espectral, cuya relevancia debe

estimarse [6]. En este trabajo, mediante DRS se extraen y miden diferentes tipos de tejido porcino ex vivo. Las mediciones espectrales se realizan en diferentes muestras y en diferentes puntos de cada muestra. Los espectros se normalizan y se aplican varios algoritmos para la reducción de la dimensión y la variabilidad, como el Análisis de Componentes Principales o el filtrado de Savitzky-Golay. La discriminación de tejidos biológicos requiere de algorítmica semiautomática. Un algoritmo muy común para reducir las dimensiones de un problema es el análisis de componentes principales PCA (Principal Component Analysis). El análisis PCA transforma un número de variables posiblemente correlacionadas en un número de variables igual o menor, no correlacionadas (ortogonales) por medio de una proyección. A partir de estos espectros, se proponen varios biomarcadores para la clasificación de tejidos y se aplican diferentes clasificadores. Se comparan los resultados y se cuantifica la eficiencia de clasificación. La siguiente Sección 2 contiene información sobre muestras de animales, configuración óptica y mediciones espectrales. Los principales algoritmos empleados también están incluidos. La sección 3 muestra algunos de los resultados obtenidos. Finalmente, la sección 4 incluye las conclusiones del trabajo.

2. Materiales y Métodos

Para los experimentos se han empleado cerdos de la raza White Large. Los animales tenían entre 2 y 4 meses de edad y un peso entre 20 y 25 kg. Se extrajeron cinco tipos de tejidos ex vivo de dichos cerdos, particularmente piel, grasa, músculo, hueso (costilla) y nervio ciático (ver Tabla 1). Se tomaron dos muestras del mismo tejido de cada cerdo. El procedimiento fue realizado en el Hospital virtual Valdecilla por un veterinario, que maneja cuidadosamente el tejido sin causar ningún daño mecánico. El procedimiento fue aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Virtual Valdecilla. La Figura 1 presenta las muestras de los tejidos colocadas en soportes diseñados específicamente para ajustarse a la configuración experimental. Se puede medir una superficie de tejido de 30x30 mm, con la excepción de los huesos y nervios, que tienen un diámetro medio de 20 mm y 1 mm, respectivamente. Después de la disección, los tejidos se limpiaron cuidadosamente con una solución de cloruro de sodio (9 mg / ml) y se envolvieron con una gasa empapada. Las muestras se almacenaron en el refrigerador (4° C), donde permanecen hasta un máximo de 12 horas hasta que se procesan las muestras.

En la Figura 2, se presenta la configuración experimental. El sistema emplea una fuente de luz blanca, una lámpara de incandescencia de banda ancha de 250 W (QTH 66499, Newport Corporation). La lámpara exhibe una curva espectral suave en un rango de longitud de onda de 200-2400 nm. El tejido se iluminó con la luz a través de un par de lentes de sílice fundida (L1 y L2). La luz difusa reflejada desde el tejido es recolectada por una lente y enfocada en una fibra óptica de 1 mm de diámetro central, que está conectada a un espectrómetro (BLK-CXR-SR-50, StellarNet Inc.), con un rango de medición entre 220-1100 nm, una resolución óptica de 0,5 nm, un tiempo de integración de 50 ms y un detector CCD / PDA de 2048 píxeles con un tamaño de 14x200 μ m / píxel. La detección se realizó oblicuamente, con un ángulo de 30°.

Relación	Tejido	Lugar de extracción
А	Piel	Pierna
В	Grasa	Papada
С	Músculo	Jamón/masetero
D	Hueso	Costilla
E	Nervio	Ciático
F	Tendón	Aquiles
G	Vascular	Arteria Ilíaca
Н	Colon	
I	Sangre	

Tabla 1. Tejidos extraídos.



Figura 1. Muestras de tejido de cerdos ex vivo.



Figura 2. Configuración experimental de la espectroscopía de reflectancia difusa.

El espectro de reflectancia del tejido $R_{tissue}(\lambda)$ se obtiene a partir de la señal capturada $S_{tissue}(\lambda)$ y del espectro de emisión de la luz $S_{light}(\lambda)$, el cual se obtiene con un patrón de reflectancia (WS-1 Ocean Optics, 250-1500 nm). La señal de fondo $S_{background}(\lambda)$ se substrae de las dos señales, y a continuación se calcula dicho espectro de reflectancia mediante la siguiente expresión:

$$R_{tissue}(\lambda) = \frac{S_{tissue}(\lambda) - S_{background}(\lambda)}{S_{light}(\lambda) - S_{background}(\lambda)}$$
(1)

Con el fin de eliminar las variaciones indeseables sistemáticas del ruido (debido al instrumento de medición y la propia muestra) se necesita realizar un pretratamiento de dichos espectros con el fin de considerar solo las variaciones de interés. Un análisis de tendencia elimina las tendencias lineales y un filtro Savitzky-Golay elimina el ruido. Los espectros se normalizan restando su media y dividiendo por su desviación estándar [8]. El análisis de componentes principales (PCA) se emplea para reducir la dimensionalidad. PCA es una técnica bien conocida para reducir la dimensionalidad del problema. El algoritmo transforma varias variables posiblemente correlacionadas en número de variables iguales o menores, un no (ortogonales), correlacionadas que se denominan componentes principales (PC). El algoritmo proyecta los datos en un espacio de menor dimensión mientras se maximiza la varianza de los datos proyectados. Cada espectro tiene 1749 puntos de datos, ya que la señal fue capturada en un rango de 226 nm a 1100.5 nm, cada 0.5 nm. Cada espectro representa un punto en R ^ 1749. La distancia entre cada observación y el centroide de su clase se mide por la distancia de Mahalanobis [6].



Figura 3. Espectro de reflectancia difusa de diferentes tipos de tejidos capturados.

En la Figura 3 se observa el espectro de varios tipos de tejidos. Se ha representado el promedio de todos los espectros capturados para un mismo tejido. Se observa que la forma de todos los espectros es similar, con picos y valles (P_i) en la misma posición, pero con sus alturas diferentes, lo que estaría relacionado con la cantidad de hemoglobina y oxígeno en cada tejido.

La Figura 4 muestra la primera derivada de los espectros. Esta curva permite observar características que son difíciles de ver en el espectro. Se observan los picos P_i que ya se habían visto anteriormente, y con mayor claridad el comportamiento en P_8 , un comportamiento que resalta entre 700-800 nm y entre 800-900 nm hay un comportamiento que puede ser ruido.



Figura 4. Primera derivada de los espectros de reflectancia difusa de diferentes tipos de tejidos capturados.

3. Resultados y Discusión

La configuración previamente descrita se emplea para obtener las mediciones, y los espectros se analizan de acuerdo con los algoritmos expuestos. En el espacio PCA, cada tejido se analiza por separado. Para obtener más información, las observaciones que provienen del mismo espécimen se dibujan con el mismo color. La Figura 5 muestra un ejemplo con la grasa y los tejidos musculares. Se analizan dos muestras (A y B) de dos especímenes (1 y 2). Al observar los gráficos, queda claro que cada subclase se une formando grupos, por lo que se puede hacer una discriminación.



Figura 5. Espacio de PC donde un tipo de tejido ha sido resaltado en colores (los puntos negros corresponden al resto de los tejidos). (a) Clase tejido adiposo. (b) Clase tejido muscular Los diferentes colores corresponden a diferentes especímenes y / o muestras.

Según la distancia de Mahalanobis, se puede definir un área de clasificación para cada tipo de tejido mediante una elipse. Como ejemplo, la Figura 6 muestra clasificaciones de elipses de tejido adiposo, primero con todas las muestras consideradas (arriba a la izquierda), y luego cuando se suprime alguna de las muestras (resto de gráficas). La influencia de las muestras particulares que se incluyen en el análisis es clara a partir de los gráficos.



Figura 6. Elipses de clasificación basadas en componentes PC para tejido adiposo. Arriba a la izquierda: Todas las muestras están incluidas. Resto de gráficas: cuando se eliminan los datos que provienen de un espécimen, el área que caracteriza a cada clase cambia.

4. Conclusiones

El DRS como técnica de clasificación es un enfoque prometedor. Se han medido varios espectros de reflectancia óptica de tejidos porcinos ex vivo de diferentes muestras y animales. Se han aplicado los procedimientos habituales de normalización. Se ha encontrado la variabilidad entre los datos provenientes de diferentes muestras y animales, evidenciada en el espacio PCA, y medida utilizando la distancia de Mahalanobis. Este análisis puede ser relevante para los problemas de clasificación y discriminación en tejidos biológicos que emplean DRS, como la cirugía guiada por imagen.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Modificación mediante alta presión de las propiedades plasmónicas y luminiscentes de nanopartículas de metales y óxidos desnudas y recubiertas" (PGC2018-101464-B-I00), del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

Referencias

[1] Brezinski, M. E., Tearney, G. J., Bouma, B., Boppart, S. A., Pitris, C., Southern, J. F. and Fujimoto, J. G., "Optical biopsy with optical coherence tomography," Ann. Ny. Acad. Sci. 838(1), 68-74 (1998).

[2] Fanjul-Vélez, F., Pircher, M., Baumann, B., Götzinger, E., Hitzenberger, C. K. and Arce-Diego, J. L., "Polarimetric analysis of the human cornea by Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography," J. Biomed. Opt. 15, 056004 (2010).

[3] García-Uribe, A., Kehtarnavaz, N., Marquez, G., Prieto, V., Duvic, M. and Wang, L. V., "Skin cancer detection by spectroscopic oblique-incidence reflectometry: classification and physiological origins," Appl. Optics 43(13), 2643-2650 (2004).

[4] Salas-García, I., Fanjul-Vélez, F. and Arce-Diego, J. L., "Superficial radially-resolved fluorescence and threedimensional photochemical time-dependent model for Photodynamic Therapy," Opt. Lett. 39, 1845-1848 (2014).

[5] Ortega-Quijano, N., Fanjul-Vélez, F., de Cos-Pérez, J. and Arce-Diego, J. L., "Analysis of the depolarizing properties of normal and adenomatous polyps in colon mucosa for the early diagnosis of precancerous lesions," Opt. Commun. 284, 4852-4856 (2011).

[6] Fanjul-Vélez, F., Arévalo-Díaz, L. and Arce-Diego, J. L., "Intra-class variability in diffuse reflectance spectroscopy: application to porcine adipose tissue," Biomedical Optics Express 9, 2297-2303 (2018).

[7] Stelzle, F., Tangermann-Gerk, K., Adler, W., Zam, A., Schmidt, M., Douplik, A. and Nkenke, E., "Diffuse reflectance spectroscopy for optical soft tissue differentiation as remote feedback control for tissue-specific laser surgery," Laser Surg. Med. 42(4), 319-325 (2010).

[8] Barnes, R. J., Dhanoa, M. S. and Lister, S. J., "Standard normal variate transformation and de-trending of near-

infrared diffuse reflectance spectra," Appl. Spectrosc. 43(5), 772-777 (1989).
Transfer learning para evaluar de forma automática la calidad en imágenes de fondo de ojo

R. Romero-Oraá¹, M. García¹, J. Oraá-Pérez², M. I. López Gálvez^{2,3}, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {roberto.romero,javier.oraa}@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 evaluación de la calidad de imágenes de fondo de ojo o retinografías juega un rol muy importante en los sistemas automáticos de screening de distintas patologías retinianas, como son la retinopatía diabética, el glaucoma o la degeneración macular asociada a la edad. En este trabajo se propone un método de deep learning simple y genérico, basado en transfer learning y fine-tuning para conseguir este objetivo. En primer lugar, se aplicó un preprocesado para normalizar las imágenes de entrada. Después, se utilizó una red neuronal convolucional con la nueva arquitectura InceptionResNetV2. El método se entrenó con 2348 retinografías de una base de datos privada. La validación se llevó a cabo usando un conjunto de test de 425 imágenes de la misma base de datos, obteniéndose un 95.29% de precisión en la determinación de la calidad de las retinografías. Asimismo, el método se evaluó utilizando la base de datos pública DRIMDB, formada por 194 imágenes, alcanzándose una precisión del 99.48%.

1. Introducción

Con la creciente incidencia de la diabetes, la Retinopatía Diabética (RD) se ha convertido en la principal causa de ceguera a nivel mundial [1]. Como sus primeras etapas son asintomáticas, los pacientes sólo son conscientes de padecer la enfermedad cuando su visión ya se ha visto afectada y es tarde para evitar la pérdida de visión [1]. Por ello, una detección precoz para un tratamiento adecuado es la única manera de prevenir el déficit visual [1,2]. Las imágenes digitales de fondo de ojo permiten obtener información de forma no invasiva sobre la salud ocular y facilitar el diagnóstico temprano de distintas patologías retinianas, como es la RD, el glaucoma y la degeneración macular asociada a la edad [3]. Sin embargo, el análisis de estas imágenes implica mucho tiempo, esfuerzo y costes [4], por lo que no resulta práctico implementar sistemas de screening manuales para una gran población [1]. En este contexto, los sistemas automáticos de screening están diseñados para asistir a los oftalmólogos [3], aliviando su carga de trabajo, reduciendo los costes y acelerando el diagnóstico [1,4].

La capacidad de diagnóstico de los sistemas automáticos de *screening* depende, en gran medida, de la calidad de la imagen de entrada. Esta calidad se puede ver afectada por la experiencia del operador, la cámara o la posible patología ocular del paciente, entre otros factores [2,3]. Es por ello que no todas las imágenes capturadas en un entorno clínico tienen suficiente calidad para ser

analizadas, lo que podría conducir a diagnósticos erróneos [1]. Por esta razón, la evaluación de la calidad de la imagen es muy importante en los sistemas automáticos de *screening* [3]. Si es posible evaluar la calidad de las imágenes de forma automática e inmediata, sería posible repetir la captura de las imágenes de calidad insuficiente en la misma consulta y sin necesidad de volver a citar al paciente [4].

Se han desarrollado numerosas propuestas para determinar de forma automática la calidad de las retinografías. Algunos métodos se basan en las características globales de la imagen [1,3,5] mientras que otros se basan en puntos de referencia [1,6]. En los últimos años, las arquitecturas deep learning, como las redes neuronales convolucionales (convolutional neural network, CNN), han ganado importancia en la evaluación de la calidad de las retinografías [2,5] puesto que pueden superar el rendimiento de los métodos convencionales [1]. En este contexto, tiene especial interés el concepto de transfer learning [8]. Esta técnica consiste en resolver un problema de machine learning en un dominio de interés particular con el conocimiento aprendido de los datos de entrenamiento de otro dominio de interés [8]. En este trabajo, el concepto de transfer learning se ha utilizado para evaluar la calidad en retinografías empleando redes preentrenadas con otro tipo de imágenes [6]. De esta manera, no es necesario disponer de un conjunto de imágenes tan amplio como si se tuviera que entrenar la red desde cero. Existen algunos trabajos previos para evaluar la calidad en retinografías empleando el concepto de transfer learning y diversas redes precentrenadas. En varios de ellos se utilizó la CNN Alexnet [2,7], mientras que en otros se estudiaron las arquitecturas VGG19, ResNet18, ResNet50 y DenseNet121 [8,9]. Otros autores propusieron combinar el uso de la CNN con características no supervisadas [3,10]. Tozatto et ál. [4] utilizaron la CNN Inception v3 comparando el entrenamiento de cero con el uso de transfer learning. Estos autores así como algunos otros [2,3,10], aplicaron además la técnica fine-tuning, que consiste en reentrenar la red preentrenada para adaptar mejor los pesos al problema.

En este trabajo se ha estudiado la utilidad de *transfer learning* para evaluar la calidad de retinografías. Se ha aplicado un preprocesado independiente de la imagen de entrada, por lo que el método se adapta a imágenes de diversas características. Se ha utilizado la CNN preentrenada InceptionResNetV2 que, hasta donde sabemos, nunca había sido utilizada para esta tarea. Además, es la primera vez que se aplica *fine-tuning* con esta arquitectura. El entrenamiento de la red se ha llevado a cabo utilizando una base de datos privada de 2773 imágenes. Sin embargo, se ha demostrado la robustez del método evaluando imágenes de una base de datos pública de 194 imágenes.

2. Base de datos de retinografías

En este estudio utilizamos una base de datos privada y la base de datos pública DRIMDB [13]. La base de datos estaba formada por 2773 privada retinografías proporcionadas por el Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid y el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Estas imágenes se capturaron con el retinógrafo no midriático Topcon TRC-NW400, con un campo de visión de 45°, a 1956×1934 píxeles de resolución v en formato JPEG de 24 bits. Un especialista determinó, para cada una, si tenían o no calidad suficiente para su análisis. Se dividieron en dos conjuntos. El conjunto de entrenamiento (2348 imágenes, 85%) contenía 1778 imágenes de buena calidad y 571 imágenes de mala calidad. El conjunto de test (425 imágenes, 15%) contenía 314 imágenes de buena calidad y 111 imágenes de mala calidad. La base de datos pública DRIMDB [13] (194 imágenes) estaba formada por 125 imágenes de buena calidad y 69 imágenes de mala calidad y se empleó para comprobar la generabilidad al método.

3. Métodos

El método propuesto parte de una etapa de preprocesado para normalizar las imágenes de entrada. Después, se aplicaron las técnicas *transfer learning* y *fine-tuning* para construir un modelo CNN que permitiese separar las retinografías de calidad adecuada e inadecuada.

3.1. Preprocesado

En esta etapa, se redimensionaron todas las imágenes a una resolución de 299x299 píxeles para adaptarlas a la capa de entrada de la CNN posteriormente utilizada. En segundo lugar, las imágenes se normalizaron en el intervalo [-1,1] [4]. Se debe destacar que la etapa de preprocesado es independiente de la base de datos empleada, pudiéndose adaptar a imágenes de diversas características [4].

3.2. Aumentación de datos

Para aumentar el número de imágenes con las que entrenar la CNN de este trabajo, se empleó la técnica de aumentación de datos en tiempo real. Esta técnica permite generar nuevas imágenes aleatorias exclusivas para cada época de entrenamiento [4]. De esta manera, el modelo se entrenó con un conjunto diferente de 2348 imágenes para cada época, generadas a partir del conjunto de entrenamiento original. Estas retinografías sintéticas se obtuvieron aplicando transformaciones simples [4]:

- Rotaciones aleatorias en el rango [-20,+20] grados.
- Desplazamientos verticales y horizontales hasta un máximo de un 7% de la anchura de la imagen.
- Volteos verticales y horizontales aleatorios.

• Escalado entre 0.85 y 1.15.

Disponer de una mayor base de datos para entrenar ofrece mejores resultados y aumenta la capacidad de generalización del método [4].

3.3. Arquitectura CNN

Las CNN son redes neuronales compuestas por capas convolucionales, además de otras como pooling y fullyconnected, y son capaces de extraer de forma optimizada características representativas de un gran conjunto de imágenes en crudo [2,4]. En este trabajo se empleó una CNN con arquitectura InceptionResNetV2, que se adaptó al problema de clasificación binaria de la calidad de las retinografías. Esta arquitectura híbrida es una combinación de Inception [14] y ResNet [15]. La arquitectura Inception incluye filtros de múltiples tamaños operando en el mismo nivel. Esto permite aprender mejor la información que se distribuye en regiones de tamaños variados sobre la imagen sin elevar excesivamente el coste computacional [14]. La última versión de esta red se conoce como Inception v4 y tiene una arquitectura más sencilla que las versiones anteriores [16]. Por su parte, ResNet facilita el proceso de aprendizaje añadiendo conexiones residuales entre la salida y la entrada de cada módulo Inception [13]. De esta manera, los modelos híbridos InceptionResNet combinan las ventajas de ambas redes, siendo posible obtener precisiones más altas en épocas más tempranas [16]. Por este motivo, la arquitectura utilizada en este trabajo es la InceptionResNetV2, que tiene 572 capas de profundidad [16]. Para adaptarla a nuestro problema de clasificación binaria, reemplazamos las últimas 3 capas por 3 capas fully connected de 1024, 512 y 1 neurona, respectivamente [4]. Las dos primeras contaban con una función de activación ReLU [4]. Para la última, se empleó una función de activación sigmoide, que proporciona una salida entre 0 y 1 y puede interpretarse como una probabilidad a posteriori.

Para aplicar *transfer learning*, el modelo propuesto se preentrenó con las imágenes del proyecto ImageNet [17]. Esta base de datos se compone de más de 14 millones de imágenes pertenecientes a más de 20000 clases distintas, como perros, fresas y aviones. Se ha utilizado con éxito en diferentes aplicaciones de imagen médica y, en particular, en análisis de retinografías [2–4,10].

A continuación, se aplicó la técnica *fine-tuning*. Esta técnica consiste en volver a entrenar todas o algunas de las capas finales de la CNN con un conjunto de entrenamiento adaptado a un problema concreto. De esta manera, los pesos se adaptan mejor a cada caso particular. En nuestro caso, se entrenaron todas las capas de nuestra CNN durante 100 épocas [10]. Se aplicó la entropía cruzada binaria como función de pérdidas y el descenso de gradiente estocástico como algoritmo de optimización [2,4,10]. La tasa de aprendizaje se fijó en 0.001 y el valor de *momentum* en 0.9 [4,12]. Para evitar sobreentrenamiento en épocas avanzadas, se redujo la tasa de aprendizaje en un factor de 10 cada vez que el error de validación alcanzase un mínimo y se mantuviese constante [4,12]. Además, se estableció un tamaño de *batch* de 16 imágenes [4].

4. Resultados

El entrenamiento de la CNN se llevó a cabo con las 2348 imágenes del conjunto de entrenamiento de la base de datos privada. Se utilizó un Workstation con procesador Intel Xeon CPU E5-1620 v4 @ 3.5GHz $\times 8$, 32GB de RAM y dos tarjetas gráficas NVIDIA TITAN X (Pascal). La CNN tardó en entrenar 128 minutos.

El método se evaluó, con la CNN entrenada, sobre el conjunto de test de la base de datos privada y el total de imágenes de la base de datos pública DRIMDB [13]. La Tabla 1 recoge estos resultados.

Base de datos	Precisión	Sensibilidad	Especificidad
Privada	95.29%	96.82%	91.00%
DRIMDB	99.48%	99.20%	100.00%

Tabla 1. Resultados sobre el conjunto de test de la base de datos privada y sobre la base de datos pública DRIMDB.

5. Discusión

En este trabajo se ha propuesto un método basado en *transfer learning* para evaluar la calidad de imágenes de fondo de ojo. Como principal contribución, hemos utilizado una CNN con arquitectura InceptionResNetV2 que, hasta donde sabemos, nunca había sido utilizada para esta tarea. Igualmente, se ha validado el uso de *fine-tuning* con esta arquitectura. El método se ha desarrollado utilizando exclusivamente retinografías de una base de datos privada. Sin embargo, se ha obtenido una alta precisión con imágenes distintas procedentes de una base de datos pública, lo que demuestra su robustez.

El método se evaluó sobre un conjunto de test de nuestra base de datos privada, independiente del de entrenamiento, y la base de datos DRIMDB. Los resultados de la Tabla 1 indican que el método propuesto es una manera simple y efectiva de clasificar retinografías según su nivel de calidad. Sin embargo, los resultados obtenidos sobre la base de datos DRIMDB son superiores a los obtenidos sobre la base de datos privada. Esto puede ser debido a que la base de datos DRIMDB presenta mayor separación entre clases. En general, existen diferencias visuales claras entre las imágenes de buena calidad y las de mala calidad en la base de datos DRIMDB (Figura 1). Sin embargo, esas diferencias son menos evidentes en la base de datos privada (Figura 2).

Nuestros resultados son similares a los obtenidos en estudios previos, como se muestra en la Tabla 2. La



*Figura 1.*Imágenes típicas de (a) mala calidad y (b) buena calidad en la base de datos DRIMDB.



Figura 2. Imágenes típicas de (a) mala calidad y (b) buena calidad en la base de datos privada.

comparación más directa puede establecerse con los trabajos de Zago et ál. [4] y Chalakkal et ál. [12], donde también se empleó la base de datos pública DRIMDB [13]. Los resultados obtenidos en este trabajo con la arquitectura InceptionResNetV2 sobre DRIMDB superan a los obtenidos en [4] y [12], como se puede observar en la Tabla 2. En otros trabajos se han utilizado bases de datos distintas, lo que influye sobre los resultados obtenidos y dificulta la comparación directa entre estudios. Cabe destacar aquellos trabajos donde se ha combinado el uso de CNNs con etapas adicionales que incrementaron notablemente la precisión [3,10]. También destaca el trabajo de Saha et ál. [2], donde se obtuvo un 100% de precisión. Sin embargo, descartaron para el estudio las imágenes de calidad ambigua, que son las más propensas a error. Es necesario mencionar que el método propuesto en este estudio se puede adaptar a diferentes bases de datos, puesto que ninguna de las etapas de procesado depende de las características concretas de las imágenes. Además, es sencillo de aplicar sobre nuevas imágenes una vez que se ha obtenido la CNN entrenada.

A pesar de la alta precisión de los resultados obtenidos, se producen algunos fallos de clasificación. Un ejemplo se puede observar en la Figura 3(a), considerada por el experto de mala calidad. En dicha imagen se aprecian bien las estructuras en parte de la imagen, pero no en toda ella. Esta puede ser la razón de la discrepancia entre el experto y el método automático. En la Figura 3(b) se muestra una retinografía clasificada como de buena calidad por el experto y en la que el sistema ha fallado. Como se aprecia, es una imagen oscura, lo que puede ser la causa del error.

Este estudio también presenta una serie de limitaciones. En primer lugar, se disponía de un número relativamente

Estudio	Base de datos	Arquitectura CNN	Precisión
Yu et ál. 2017 [3]	Kaggle	Alexnet	95.42%
Saha et ál. 2018 [2]	EyePACS	Alexnet	100%
Zago et ál. [4]	DRIMDB	Inception v3	98.55%
Chalakkal et ál. [12]	DRIMDB	Inception v1	97.77%
Método propuesto	Privada	InceptionResNetV2	95.29%
Método propuesto	DRIMDB	InceptionResNetV2	99.48%

Tabla 2. Comparación de los resultados con otros estudios.



Figura 3. Imágenes clasificadas erróneamente: de (a) mala calidad y de (b) buena calidad.

limitado de imágenes para las tareas de *deep learning*. Aunque se ha tratado de paliar este problema empleando técnicas de aumentación de datos, en futuros estudios se tratará de ampliar la base de datos, especialmente con imágenes de mala calidad. En segundo lugar, la precisión obtenida con el método propuesto todavía tiene margen de mejora. Se tratará de complementar la CNN con fases adicionales que permitan mejorar los resultados de clasificación.

6. Conclusiones

En este trabajo se ha propuesto un método simple y genérico basado en *deep learning* para la evaluación de la calidad de retinografías. Los resultados obtenidos indican que las técnicas de *transfer learning* son herramientas potentes para evaluar la calidad sin necesidad de disponer de una base de datos de partida excesivamente grande. Por otro lado, la novedosa arquitectura InceptionResNetV2 ha permitido obtener buenos resultados en esta tarea, superando incluso el rendimiento de la red Inception v3 sobre la base de datos pública DRIMDB.

Se puede considerar que el método propuesto podría ser de utilidad en un entorno clínico, facilitando el *screening* y evaluación de diversas enfermedades oculares. Además, se podría utilizar como primera etapa en sistemas de ayuda al diagnóstico y estadiaje de patologías como la RD, el glaucoma y la degeneración macular asociada a la edad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el 'Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades' y el 'Fondo Social Europeo de Desarrollo Regional' (FEDER) bajo el proyecto 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 SpainPortugal POCTEP 2014-2020'). R. Romero-Oraá disfruta de un contrato predoctoral cofinanciado por el Fondo Social Europeo, el Programa Operativo de Castilla y León, y la Junta de Castilla y León, a través de la Consejería de Educación.

Referencias

- Lin J, Yu L, Weng Q, and Zheng X. Retinal image quality assessment for diabetic retinopathy screening: A survey. *Multimed. Tools Appl.*, 2019.
- [2] Saha SK, Fernando B, Cuadros J, Xiao D, Kanagasingam K. Automated Quality Assessment of Colour Fundus Images

for Diabetic Retinopathy Screening in Telemedicine. J. Digit. Imaging, vol. 31, no. 6, pp. 869–878, 2018.

- [3] Yu F, Sun J, Li A, Cheng J, Wan C, Liu J. Image quality classification for DR screening using deep learning. Actas de 2017 39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2017, pp. 664–667.
- [4] Zago GT, Andreão RV, Dorizzi B, Teatini Salles EO. Retinal image quality assessment using deep learning. *Comput. Biol. Med.*, 2018.
- [5] Pires Dias JM, Oliveira CM, and Da Silva Cruz LA. Retinal image quality assessment using generic image quality indicators. *Inf. Fusion*, vol. 19, no. 1, pp. 73–90, 2014.
- [6] Welikala RA, Fraz MM, Foster PJ, Whincup PH, Rudnicka AR, Owen CG, Strachan DP, Barman SA. Automated retinal image quality assessment on the UK Biobank dataset for epidemiological studies. *Comput. Biol. Med.*, vol. 71, pp. 67–76, 2016.
- [7] Raj A, Tiwari AK, Martini MG. Fundus image quality assessment: survey, challenges, and future scope. *IET Image Process*, vol. 13, no. 8, pp. 1211–1224, 2019.
- [8] Pan SJ, Yang Q. A Survey on Transfer Learning. *IEEE Trans. Knowl. Data Eng.*, vol. 22, no. 10, pp. 1345–1359, 2010.
- [9] Tennakoon R, Mahapatra D, Roy P, Sedai S, Garnavi R. Image quality classification for DR screening using convolutional neural networks. *Ophthalmic Medical Image Analysis Third International Workshop*, pp. 113–120, 2016.
- [10] Coyner AS, Swan R, Brown JM, Kalpathy-Cramer J, Kim SJ, Campbell JP, Jonas KE, Ostmo S, Chan RVP, Chiang MF. Deep Learning for Image Quality Assessment of Fundus Images in Retinopathy of Prematurity. *Actas de AMIA Annu. Symp.*, vol. 2018, pp. 1224–1232, 2018.
- [11] Fu H, Wang B, Shen J, Cui S, Xu Y, Liu J, Shao L. Evaluation of Retinal Image Quality Assessment Networks in Different Color-spaces. 2019.
- [12] Chalakkal RJ, Abdulla WH, Thulaseedharan SS. Quality and content analysis of fundus images using deep learning. *Comput. Biol. Med.*, 2019.
- [13] Sevik U. DRIMDB (Diabetic Retinopathy Images Database) Database for Quality Testing of Retinal Images. 2014.
- [14] Szegedy C, Liu W, Jia Y, Sermanet P, Reed S, Anguelov D, Erhan D, Vanhoucke V, Rabinovich A. Going deeper with convolutions. *Actas de IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2015, vol. 07-12-June, pp. 1–9.
- [15] He K, Zhang X, Ren S, Sun J. Deep residual learning for image recognition. Actas de IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 2016, vol. 2016-Decem, pp. 770–778.
- [16] Szegedy C, Ioffe S, Vanhoucke V, Alemi AA. Inception-v4, inception-ResNet and the impact of residual connections on learning. Actas de *31st AAAI Conference on Artificial Intelligence*, 2017, pp. 4278–4284.
- [17] Deng J, Dong W, Socher R, Li L, Li K, Fei-Fei L. ImageNet: A large-scale hierarchical image database. Actas de 2009 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, 2009, pp. 248–255.

Portable tomography with a conventional C-Arm system

C. Rivero¹, N. Ballesteros¹, 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, {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

Abstract

Computed Tomography (CT) allows us to produce crosssectional images of the sample, facilitating the visualization of a certain body part without disturbance of surrounding structures. CT may not be available due to patient mobility restrictions in circumstances where obtaining depth information could be beneficial for diagnosis or surgical precision. Conventional C-Arm systems are low-cost, portable and open-shaped, but they are designed to acquire planar images. This work describes a complete protocol for using a C-Arm as a tomograph, correcting for the mechanical instability of the system and the limited angular span during the acquisition. Evaluation using simulations and real data shows the ability of obtaining tomographic images in cases with high mechanical tolerance.

1. Introduction

During surgery or in the ICU, the acquisition of tomographic images of the patient could provide valuable clinical information. Using a CT system is hardly an option because of the monitoring equipment attached to the patient. In these situations, C-Arms are X-ray fluoroscopic systems which are widely used, since they present an arcshaped gantry which connects source and detector and can be easily set around the patient bed. Their portability and open-shape make them suitable for these environments, but they are designed to provide real time 2D images deprived from depth information. Cone-beam CT systems, composed by advanced isocentric C-Arms, have shown their successful performance for tomography in these applications [1-2], but they require a larger economical inversion than standard C-Arms and need the complete rotation around the patient similarly to a CT system hindering their use in a general basis.

The use of a standard C-Arm as a tomograph presents some difficulties. These systems are mechanically instable, which prevents an accurate geometrical calibration. The relative distances between source and detector change for different projections because of the mechanical strains induced by the heavy loads at their ends, resulting in a noncircular path. The looseness in the detector leads to modifications in its position (slight rotations and translations) for every projection as well. The nonrepeatability of these parameters makes the periodic calibration procedure common in tomographic systems unreliable. Moreover, due to physical movement restrictions that prevent the acquisition of data within an angular span of 360 degrees and a high number of projections as it is done in standard CT, conventional reconstruction algorithms such as FDK [3] result in severe artifacts in the images.

A recent study [4] developed a procedure to compensate the high mechanical tolerance and the limited available data of a C-arm system exploiting the information of the surface sample, to be able to use it as a tomograph. The acquisition of the surface sample can be done with a light 3D surface scanner, which does not suppose additional dose to the patient. Nevertheless, this method assumed a periodic geometrical calibration close to the real one and a recognizable contour of the sample. This work improves that protocol to be able to cope with any type of study data and clinical scenario.

2. Method

Figure 1 shows the proposed workflow, which can be divided in two steps. The first step corrects the geometrical parameters from the periodical calibration and the second step performs an advanced iterative reconstruction method with this information. Both steps use a surface model of the sample, which is acquired with a contactless light 3D surface scanner. The obtained surface is then processed (hole filling, external objects removal) to obtain a clean polygonal mesh which is then converted into a binary mask using the *3D Slicer* software [5]. The system geometrical calibration, *calib*_{ini}, is calculated by the method proposed by Cho et al [6].

2.1. Initial FDK reconstruction

The initial reconstruction, *reco_{ini}*, is obtained with the FDK-based algorithm Mangoose [7-8] using the system geometrical calibration, resulting in misalignment artifacts, distorted contours and streaks due to geometrical tolerances and low angular span (Figure 2-A). This volume is used to define the field of view of the acquisition.

2.2. Registration

The mask is aligned to the initial reconstruction by a 3D rigid transformation (translation and rotation only). The registered mask is then projected with FUX-sim [9] using *calib*_{ini}, and aligned to the acquired projections (*proj*_{ini}) by a similarity transformation (translation, rotation and scaling). Both registrations are implemented in Matlab using mutual information as cost function, which reaches a maximum when the joint entropy of both volumes is minimized. Figure 2 shows an axial slice of the initial



Figure 1. Workflow of the proposed method.

reconstruction of a hand phantom, the registered mask and its projection, and the corresponding acquired projection.

In cases in which the initial FDK reconstruction is severely distorted and contaminated by streak artifacts, and/or the shape of the sample does not facilitate a successful output of the initial 3D intensity-based registration, a second option has been developed for these alignments, based on the use of fiducial markers previously placed in the acquired data. The feature-based 3D registration between the initial reconstruction and the mask is done in *3D Slicer*, where both fiducials clouds are manually located for the computation of the geometrical transformation.

For the second step, a volume with only the markers at the positions of the registered mask fiducials (*markers*_{maskreg}) is created in Matlab, and projected with *calib*_{ini} using FUX-sim. In both the acquired projections (*proj*_{ini}) and the projections with the mask markers, the fiducials are detected automatically by an algorithm based on the circular Hough transform. Finally, the 2D transformation for their registration is inferred from both point cloud positions for each projection pair.



Figure 2. A: axial slice of the initial reconstruction of a hand phantom, B: axial slice of the registered mask, C: projection of the registered mask, D: acquired projection.

2.3. Refinement of the geometrical calibration

The resulting transformation matrix from the 2D registration takes as origin the centre of the detector and its translation parameters (tx and ty), angle of rotation (α), and scaling factor (s) are used to correct the horizontal offset ($\Delta h_{original}$), vertical offset ($\Delta v_{original}$), angle of rotation (*Skew*_{original}) in the detector plane, and the distance between

the detector and the object ($DDO_{corrected}$), which affects the magnification factor (MF). The detector misalignments that we want to correct are illustrated in Figure 3, and the equations for all the refinements are the following:

$$\Delta h_{corrected} = \Delta h_{original} + tx \tag{1}$$

 $\Delta v_{corrected} = \Delta v_{original} + ty \tag{2}$

 $Skew_{corrected} = Skew_{original} - \alpha \tag{3}$

 $MF_{desired} = DDO_{original} / DSO_{original} + s \tag{4}$

 $DDO_{corrected} = (MF_{desired}-1)*DSO_{original}$ (5)



Figure 3. Detector misalignments which are refined based on the 2D registration in the projection domain.

2.4. Advanced reconstruction

The reconstruction with the corrected calibration file and the initial projections is performed by the Surface-Constrained Method for Limited Data tomography (SCoLD) [10], an iterative reconstruction algorithm which imposes as constraint the belonging of the solution to the subspace defined by the registered surface mask. It is based on the minimization of the total variation function:

$$\min_{u} TV(u) \ s.t. \|Au-f\|_2^2 < \xi, \ u \ge 0, \ u \in \Omega s$$
(6)

where u is the reconstructed image, A is the system matrix, f is the acquisition data, ξ is the image noise and Ωs corresponds to the surface support. Parameters of the method affecting the different constraints must be adjusted to obtain a proper solution. The most important ones are: μ (data fidelity constraint weight), λ (total variation assumption weight, affecting the smoothness of the resulting image), γ (surface subspace constraint weight) and the number of iterations.

3. Evaluation

The method was evaluated using simulations based on the thorax of the PBU-60 anthropomorphic phantom (Kyoto Kagaku Co., Kyoto, Japan). A CT of this phantom was acquired beforehand in a Toshiba Aquilion/LB helical scanner, obtaining a volume with a matrix size of $410 \times 310 \times 300$ and isotropic voxel size 0.931 mm.

Three circular radiopaque markers of radius 3.7 mm and density of 3 g/cm³ (higher than bone to be visible in the X-ray image) were located on the surface at distant positions. Projections of this CT were simulated using FUX-sim with the following geometrical calibration parameters: 170-degree angular span, 1-degree angular step, a distance between source and object of 751 mm, ad istance between object and detector of 273 mm, and no geometrical misalignments. The surface mask was simulated from the CT by morphological operations (Otsu thresholding and hole filling). This thorax data is illustrated in Figure 4.

To simulate the inaccurate calibration file coming from the system (*calib*_{ini}), the geometrical calibration used to obtain the CT projections was modified by assigning a random number between -3 and 3 to the vertical and horizontal offset in millimetres and to the skew values in degrees, and summing a random number between -50 mm and 50 mm to the distances.

The 2D and 3D registrations were feature-based (fiducial registrations).



Figure 4. A projection of the thorax (left), CT central axial slice (center) and mask central axial slice (right).

Finally, we evaluated the proposed protocol on real data acquired in an in-house built C-arm prototype based on the flat panel detector XRpad 4336 (PerkinElmer Inc., US). Four spherical ceramic-based markers, with a diameter of 4 mm were placed on the foot of the PBU-60 anthropomorphic phantom previous to the image acquisition. 49 projections of the foot were acquired within an angular span of 120 degrees, with pixel size of 0.4 mm and matrix size 889×1080. Source parameters were 125 kVp, 0.8 mAs, and a distance between source and detector of 125 cm. The surface model was acquired with the structured-light 3D scanner, the 3D ArtecEva (Artec3D, Luxembourg). Both data are shown in Figure 5.



Figure 5. A projection of the foot (left) and a view of its surface model in 3D Slicer (right).

The data was reconstructed with Mangoose and SCoLD, generating volumes of $410 \times 310 \times 300$ pixels with isotropic voxel size of 0.931 mm in the thorax simulation, and of $512 \times 512 \times 364$ pixels with isotropic voxel size of 0.625 mm in the case of the foot. Parameters used for SCoLD were: $\mu = 15$, $\lambda = 2$, $\gamma = 0.1$ and 70 iterations.

4. Results

Figure 6 shows an axial central slice of the thorax CT volume (gold standard), the FDK reconstruction before and after the refinement of the geometrical calibration, and the final reconstruction with SCoLD. Figure 7 shows the same set of images for the foot case. It can be appreciated in the corrected FDK reconstructions for both the simulated and real data that there is a better definition of the edges due to the suitable refinement of the geometrical calibration. Nevertheless, there are areas of diffused contours and some streaks because of the low angular span and low number of projections, as expected. SCoLD enables the suppression of the streak artifacts and the recovery of the diffused contours thanks to the surface constraint. These final reconstructions are visually close to the CT ones and took two hours because of the high number of iterations (no effort on optimization was made).



Figure 6. Central axial slice of the thorax CT (left up), preliminary FDK reconstruction (right up), corrected FDK reconstruction (left down) and final SCoLD reconstruction (right down).



Figure 7. Central axial slice of the foot CT (left up), preliminary FDK reconstruction (right up), corrected FDK reconstruction (left down) and final SCoLD reconstruction (right down).

5. Conclusion and future work

The whole protocol for performing low-dose tomography with a non-motorized C-Arm system, designed for planar imaging, has been presented. The exploitation of the surface information allows to correct for the main geometrical calibration parameters and perform an advanced iterative reconstruction method which improves considerably the quality of the reconstruction. The placement of markers on the sample, enabling point-based registrations, has proved to be a feasible alternative for cases where intensity-based registration outputs are incorrect due to highly distorted initial FDK reconstructions, presence of truncation artifacts and/or samples without a characteristic shape. Intensity-based registrations must be the first option because of their entire automaticity.

In this work, the acquisition of the surface was done with a light scanner, which can be hindered in a real clinical environment by the presence of sanitary cloaks on the target region. This issue could be solved using thermal imaging, as long as the sanitary cloaks satisfy certain spectral conditions.

The long time for SCoLD can be optimized with a better selection of the algorithm parameters to achieve a faster convergence, as shown in previous work [4] with reconstruction times of around 6 minutes. On the other hand, the use of multiple GPUs could lead to a decrease by half of the computational times, as it has been achieved in similar algorithms [7].

Further test should be carried out with real thorax data in order to properly evaluate this methodology with complex structures. The values of a real system geometrical calibration do not change so randomly as in our simulated incorrect one, but tend to follow some trend. The successful results for the simulation show the robustness of the protocol.

The presented results show the viability of the proposal, which could benefit patients with a better diagnosis and intervention due to the availability of tomographic information in those high-risk scenarios where it is absent, such as surgery and the ICU. The proposed methodology enables tomography with less than half of the number of acquired projections in a conventional CT scan, resulting in a reduction of the radiation dose received by the patient. The economic advantage of using a C-Arm over a CT scan could imply that, in those hospitals in developing countries where a CT scan is unaffordable, tomographic information would still be present. In addition, other X-Ray medical systems intended to planar imaging could also benefit from this procedure.

6. Acknowledgments

This work has been supported by Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (Instituto de Salud Carlos III, projects DTS17/00122; Agencia Estatal de Investigación, project DPI2016-79075-R - AEI/FEDER, UE), co-funded by European Regional Development Fund (ERDF), "A way of making Europe". The CNIC is supported by the Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades and the Pro CNIC Foundation, and is a Severo Ochoa Center of Excellence (SEV-2015-0505).

Bibliography

- [1] Kenngott H G, Wagner M, Gondan M, Nickel F, Nolden M, Fetzer A, Weitz J, Fischer L, Speidel S, Meinzer H P, et al. Real-time image guidance in laparoscopic liver surgery: first clinical experience with a guidance system based on intraoperative CT imaging. *Surgical Endoscopy*, vol 28, sup 3, 2014, pp 933-40 (ISSN: 0930-2794).
- [2] Daly M J, Siewerdsen J H, Moseley D J, Jaffray D A, Irish J C. Intraoperative cone-beam CT for guidance of head and neck surgery: Assessment of dose and image quality using a C-arm prototype. *Medical Physics*, vol 33, sup 10, 2006, pp 3767-80 (ISSN: 0094-2405).
- [3] Feldkamp L A, Davis L C, Kress J W. Practical conebeam algorithm. *Journal of the Optical Society of America A*, vol 1, sup 6, 1984, pp 612-9.
- [4] Abella M, de Molina C, Ballesteros N, García-Santos A, Martínez Á, García I, Desco M. Enabling tomography with low-cost C-arm systems. *PLoS One*, vol 13, sup 9, 2018.
- [5] Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, Finet J, Fillion-Robin J-C, Pujol S, Bauer C, Jennings D, Fennessy F, Sonka M, et al. 3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network. *Magnetic Resonance Imaging*, vol 30, sup 9, 2012, pp 1323-41 (ISSN: 0730-725X).
- [6] Cho Y, Moseley D J, Siewerdsen J H, Jaffray D A. Accurate technique for complete geometric calibration of cone-beam computed tomography systems. *Medical Physics*, vol 32, sup 4, 2005, pp 968-83 (ISSN: 0094-2405).
- [7] Blas J G, Abella M, Isaila F, Carretero J, Desco M. Surfing the optimization space of a multiple-GPU parallel implementation of a X-ray tomography reconstruction algorithm. *Journal of Systems and Software*, vol 95, 2014, pp 166-75 (ISSN: 0164-1212).
- [8] Abella M, Vaquero J J, Sisniega A, Pascau J, Udias A, Garcia V, Vidal I, Desco M. Software architecture for multi-bed FDK-based reconstruction in X-ray CT scanners. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol 107, sup 2, 2012, pp 218-32 (ISSN: 0169-2607).
- [9] Abella M, Serrano E, Garcia-Blas J, Garcia I, de Molina C, Carretero J, Desco M. FUX-Sim: Implementation of a fast universal simulation/reconstruction framework for X-ray systems. *PLoS One*, vol 12, sup 7, 2017, (ISSN: 1932-6203).
- [10] de Molina C, Abascal J, Desco M, Abella M. Study of the possibilities of surface-constrained compressed sensing (SCCS) method for limited-view tomography in CBCT systems CT-Meeting 2016: The 4th International Conference on Image Formation in X-Ray Computed Tomography, Bamberg, 2016, pp 491-4

Quantitative analysis of early-phase ¹⁸F-flutemetamol PET brain images

W. Dghoughi¹, A.P. Seiffert¹, A. Gómez-Grande², A. Villarejo-Galende³, H. Bueno^{4,5}, E.J. Gómez^{1,6}, P. Sánchez-González^{1,6}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; w.dghoughi@alumnos.upm.es, {aseiffert, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es ² Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; adolfogomez@gmail.com

³ Servicio de Neurología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; avgalende@yahoo.es

⁴ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, España; h.bueno@cnic.es

⁵ Instituto de Investigación i+12, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

⁶ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Abstract

PET imaging techniques can be used to visualise the two major biomarkers of Alzheimer's disease (AD). A series of radiotracers bind to amyloid-beta $(A\beta)$ plaques in the brain while cerebral metabolism is assessed on ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG) PET images. It is demonstrated that acquiring a PET image up to 10 minutes after the injection of an $A\beta$ -binding tracer yields images that resemble PET images acquired with FDG. Therefore, these early-phase PET-amyloid images are suggested to be a surrogate to PET-FDG images and offer information about the cerebral perfusion, which is closely linked to the cerebral metabolism. In this work, early-phase PET images acquired with ¹⁸F-flutemetamol (FMM) are analysed and the correlation with FDG images is quantitatively assessed. Moreover, the results are compared to studies that used two different $A\beta$ binding tracers, namely ¹⁸F-florbetapir (FBP) and ¹⁸Fflorbetaben (FBB). The Pearson's correlation coefficient (r) is used to analyse how the standard uptake value ratios (SUVR) of different regions of interest of early-phase FMM and FDG images are related. An average correlation (± standard deviation) of $r = 0.76 \pm 0.07$ is obtained. ROI-based analysis showed that the highest correlation between both images is present in the right temporal lobe (r = 0.85). These values are comparable to the two selected studies that are based on early-phase FBP and FBB images. Therefore, the results suggest that early-phase PET-FMM acquisitions offer similar information to PET-FDG images.

1. Introduction

PET imaging with different radiotracers is widely used for the diagnosis of neurodegenerative diseases. It is especially useful for understanding and diagnosing Alzheimer's disease (AD) [1]. AD is characterized by two main biomarkers that can be visualized by PET imaging [2]: (1) amyloid-beta (A β) plaques, and (2) neurodegeneration. Different radiotracers are needed in order to acquire the images. In the first case, radiotracers like ¹¹C-Pittsburgh compund B (PiB), ¹⁸F-florbetapir (FBP), ¹⁸F-florbetaben (FBB) or ¹⁸F-flutemetamol (FMM) bind to the fibrillar amyloid plaques [1]. The neurodegeneration is assessed by analysing the cerebral metabolism with ¹⁸Ffluorodeoxyglucose (FDG) images, which is directly linked to the cerebral perfusion [2]. The goal of the dual-phase amyloid PET imaging protocol is to unify the information of both biomarkers obtained with PET-amyloid and PET-FDG images [3]. Two images are acquired, both using an amyloid-binding tracer. At first, an early PET image 1-6 minutes after the intravenous injection of the tracer is obtained [4]. Later, the standard PET amyloid image is acquired. It has been shown that the information of cerebral perfusion presented by the early PET amyloid acquisition is very similar to that of PET-FDG images. Therefore, only one PET examination could provide information about both biomarkers [3].

The similarity between the early-phase PET-amyloid acquisitions and PET-FDG images has been studied previously [4–6]. Usually, both images are quantified using the standardized uptake value (SUV) and the regional correlation in cortical regions is calculated. Such correlation studies have been carried out using FBP [4, 5] and FBB [6]. Even though early-phase PiB images were also analysed in different studies, the low half-life of ¹¹C means that the radiotracer is usually not used in routine clinical practice.

In 2012, Hsiao et al. [4] analysed different time intervals for the acquisition of the early-phase FBP (eFBP) images and their correlation to FDG images. The authors obtained a regional Person's correlation coefficient (r) of up to 0.93 in the temporal region (superior and middle for 0-2 and 1-6 minutes after the radiotracer injection, respectively). A study by Devous et al. [5] from 2014 resulted in an average correlation of 0.91 between both images. On the other hand, early-phase FBB (eFBB) images have been studied more recently. In 2017, Daerr et al. [6] analysed reported a Pearson's correlation coefficient of up to 0.86 ± 0.05 between early-phase FBB and FDG images. Moreover, a high visual correlation between three readers was observed. In every study, the usefulness of earlyphase PET-amyloid images as a surrogate for PET-FDG images was confirmed.

In this work the similarity between early-phase PET-FMM (eFMM) and PET-FDG images is studied. A correlation analysis is performed using SUV ratios (SUVR) extracted from both images. For the analysis, Pearson's correlation coefficient is calculated, and the results are compared to the studies based on eFBP and eFBB acquisitions.

2. Material and Methods

2.1. Materials

For this retrospective study, eFMM and FDG images are provided by the department of nuclear medicine of the *Hospital Universitario 12 de Octubre*, Madrid, Spain. The images correspond to 19 cases that are suspected of present a neurodegenerative disease and are registered at said hospital. The mean age (\pm standard deviation) of the patients is 66.05 \pm 8.34 years. Of the 19 patients, 4 are male and 15 are female.

The images were acquired at the hospital with a Siemens Biograph 6 True Point PET/CT scanner (Siemens AG, Munich, Germany). Patients fasted for 6 hours before the intravenous injection of the radiotracer. In the case of FMM, the dose was 198 ± 23 MBq and static PET images were acquired 1 minute after the injection. A dose of 257 \pm 94 MBq was used for the FDG images, which were obtained 30-70 minutes after its administration. A lowdose CT scan was used for attenuation correction.

MATLAB version R2019a (The MathWorkds, Inc., Natick, Massachussetts, US) is used to process the images, extract the SUVRs and perform the statistical analysis. The images are preprocessed in Statistical Parametric Mapping 12 (SPM12) (Wellcome Centre for Human Neuroimaging, University College London, London United Kingdom) [7]. Moreover, for a regional analysis of the results, the brain segmentation of the Automatic Anatomical Labelling (AAL2) atlas is used [8, 9]. The 116 regions defined by the atlas are grouped into 7 regions of interest (ROI) per brain hemisphere and one reference region. The ROIs are the frontal, parietal, temporal and occipital lobes, the anterior and posterior cingulate cortices, and the precuneus. The cerebellum is used as the reference region because it is usually not affected in AD.

2.2. Methods

The methodology of this work is divided into three steps: (1) preprocessing, (2) quantification, and (3) statistical analysis.

Preprocessing. All images are preprocessed using SPM12. First, the origin of the native space is manually set to the anterior commissure and is horizontally aligned to the posterior commissure. Then, the images are spatially normalized to the Montreal Neurological Institute (MNI) space based on a tissue probability map provided by SPM12. The final image volumes have matrix dimensions of $91 \times 109 \times 91$ and a voxel size of $2 \times 2 \times 2$ mm³. This normalisation compensates for anatomical differences between patients and different orientations between eFMM and FDG images of the same patient.

Quantification. After the spatial normalization of the images, they are converted to SUV maps. The activity concentration [Bq/mL] in each voxel is converted to up-

take values [g/mL] based on the patient's body weight and using the equation in [10].

After that conversion, the different ROIs are defined using the AAL2 segmentation as is explained in the previous section. Binary masks are computed and the eFMM and FDG images are segmented. Average SUV values of each region are calculated and normalised to the average SUV of the cerebellum, resulting in SUVRs. Each image (eFMM and FDG) is defined by a total of 14 SUVRs, one for each region and hemisphere.

Statistical analysis. Pearson's correlation analysis is used to compare eFMM and FDG images. Concretely, *r* values for each ROI are calculated based on the SUVRs of the eFMM and FDG images. Moreover, intrapatient correlation is calculated using the same SUVRs.

3. Results and Discussion

A total of 38 images were preprocessed, one eFMM and one FDG image for each of the 19 patients. An example is shown in *Figure 1*. The images correspond to a 66-yearold female patient suspected of suffering AD.



Figure 1: Examples of eFMM (left) and FDG (right) images.

Then, SUVRs are computed for all images based on the 7 ROIs defined in the previous section. The intrapatient correlation is calculated using Pearson's correlation analysis and is based on these SUVRs for each of the 19 patients of the study group. The average intrapatient correlation (\pm standard deviation) of the study group is $r = 0.88 \pm 0.06$. It is calculated as the mean of the individual Pearson's correlation coefficients from the 19 individual tests.

The regional correlation coefficients are shown in *Table 1*. They are calculated based on the SUVRs of the eFMM and FDG images of the patients of the study group.

Region	Brain hemisphere	Pearson's r
	L	0.83
Frontal	R	0.73
Dorietal	L	0.84
Failclai	R	0.52*
Temporal	L	0.76
Temporar	R	0.85
<u> </u>	L	0.73
Occipital	R	0.50*
Anterior Cingulate	L	0.76
Cortex	R	0.74
Posterior Cingulate	L	0.87
Cortex	R	0.70
D	L	0.70
Precuneus	R	0.64

Table 1: Pearson's correlation coefficients (p < 0.01); L: Left,R: Right; *p < 0.06.

The obtained results show high correlation values in most regions. High correlation values between early-phase PET-amyloid and PET-FDG images were reported in previous publications as is described in the first section [4-6]. As is stated in the introduction, three radiotracers that bind to $A\beta$ plaques are labeled with fluorine-18. Those previous studies analysed eFBP and eFBB acquisitions and concluded that the images were similar to PET-FDG images. However, this work is centered on the third radiotracer, ¹⁸F-flutemetamol. Generally, the obtained correlation values between eFMM and FDG images are comparable to those reported by studies analysing one of the other A β -binding ¹⁸F-labeled radiotracers. It needs to be noted that the time window of 0-2 minutes in the study by Hsiao et al. is used for the comparisons, as it is closer to the first minute static eFMM images used in this work. Devous et al. used the first five minutes after the radiotracer injection but the authors only report the average correlation between eFBP and FDG images without analysing different ROIs. In the case of the results of the study by Daerr et al., the correlation values for cerebellar normalisation and a time frame of 0-5 minutes are used.

The average correlation (\pm standard deviation) value of all ROIs is $r = 0.76 \pm 0.07$. In contrast, the studies based on FBP obtained average ROI correlation values of $r = 0.77 \pm 0.15$ [4] and 0.91 [5]. Daerr *et al.* [6], based on eFBB images, obtain an average ROI correlation of $r = 0.75 \pm 0.1$. With the exception of the study by Devous *et al.*, the correlation between eFMM and FDG images is comparable to the values obtained with eFBP or eFBB images.

Another difference to the studies that compare eFBP and eFBB to FDG images is the size and composition of the study group. In this work, 19 patients form the study group that are suspected of have a neurodegenerative disease. In the case of eFBP images, it is comparable to the number of subjects of the study by Hsiao *et al.* (14 subjects), however the authors use normal control subjects. Devous *et al.* base their study on 77 subjects in-

cluding 21 cognitively normal subjects. On the other hand, Daerr *et al.* compare 33 eFBB images to FDG images of recruited patients.

Analysing the individual ROIs, it can be observed that the correlation values for the left hemisphere are higher than for the right, with the exception of the temporal lobe. Interestingly, this distribution is not seen in the study by Daerr *et al.*, which also divides the ROIs according to the brain hemisphere. On the other hand, the study by Hsiao et al. does not differentiate by brain hemisphere.

Firstly, the left and right anterior cingulate cortices present correlation values of r = 0.76 (p < 0.01) and r = 0.74(p < 0.01), respectively. These values are to the average correlation of all the analysed ROIs. However, it is a region that is not analysed in the studies by Hsiao *et al.* or Daerr *et al.* Therefore, the performance of eFMM images in this region cannot be compared to eFBP or eFBB images.

The overall lowest correlation value is observed in the right occipital lobe with r = 0.50 (p < 0.06). In addition to a correlation value in the left hemisphere of r = 0.73 (p < 0.01) the correlation between eFMM and FDG images is on the lower end of the presented values. The obtained value for the left hemisphere is comparable to that reported in the study by Hsiao et al. with eFBP images (ranging from r = 0.65 in the inferior occipital lobe to r = 0.87 in the superior occipital lobe). Comparing the results with FMM to eFBB images, the correlation value in the left hemisphere is slightly lower than the value reported by Daerr *et al.* (r = 0.78, p < 0.01). The difference is more apparent for the right hemisphere (r = 0.70, p < 0.01). However, the occipital lobe is not a region of high interest in the diagnostic process of AD during the visual analysis by the physicians. The constant visual stimuli during the PET scanning provoke high metabolic activity in the occipital lobe as it includes the visual cortex.

Another region of comparably low correlation values is the precuneus. The obtained values are r = 0.70 (p < 0.01) and r = 0.64 (p < 0.01) for the left and right hemispheres, respectively. The precuneus is usually not analysed separately in the mentioned studies however it is part of the superior parietal lobe. Therefore, the results are compared to those reported for the parietal lobe in previous studies. Using eFBP images, Hsiao *et al.* obtain a correlation with FDG images of r = 0.80 in the superior parietal lobe. The correlation coefficient in the study by Daerr *et al.* is r =0.83 (p < 0.01) and r = 0.82 (p < 0.01) for the right and left hemisphere, respectively. As can be observed, these values are higher than the correlation shown for eFMM images. However, it has to be noted that the precuneus is only a small part of the parietal lobe.

The parietal lobe, excluding the precuneus, is also analysed in this work. The left parietal lobe presents a high correlation between eFMM and FDG images (r = 0.84, p < 0.01). Meanwhile, the right parietal lobe presents a low correlation of r = 0.52 (p < 0.06). The parietal lobe is an important area in the diagnosis of AD as it is characterised by a hypometabolic pattern on FDG images. Therefore, high correlation values between eFMM and FDG

images are needed in such areas to use eFMM images in its diagnosis. As is shown in the previous passage, eFBP and eFBB images correlate highly with FDG images. The correlation coefficients are comparable to the result for eFMM images but only in the left hemisphere.

Two other regions of high interest in the diagnosis of AD are the posterior cingulate cortex (PCC) and the temporal lobe. While the PCC shows correlation values of r = 0.70(p < 0.01), these are slightly higher for the temporal lobe (r = 0.76 and r = 0.85 for the left and right hemispheres,respectively; p < 0.01). In addition, the right temporal lobe is the ROI with the highest correlation between eFMM and FDG images when compared to the other regions. In contrast, Hsiao *et al.* obtain r = 0.93 and r =0.87 for the superior and middle temporal lobe, respectively. However, the authors do not analyse the PCC. Comparing eFBB to FDG images, Daerr et al. report higher correlation values for both regions (r = 0.76 (left) and r = 0.86 (right) for the PCC, and r = 0.85 for the temporo-lateral lobe; p < 0.01). Thus, the correlation between eFMM and FDG images in the PCC and temporal lobe is similar to the values obtained for eFBP and eFBB images.

Lastly, the frontal lobe is also a region of interest in the diagnosis of neurodegenerative diseases based on images of cerebral metabolism or perfusion. Frontotemporal dementia is characterized by hypometabolism in the frontal lobe. Moreover, the differentiation to AD is important and can be achieved by the analysis of the metabolism in said region as both diseases present an alteration of the temporal lobe. Correlation values of r = 0.83 (p < 0.01) and r = 0.73 (p < 0.01) are obtained for the left and right frontal lobes, respectively. Hsiao et al. report correlation values ranging from r = 0.41 to r = 0.76 for the frontal lobe. Therefore, the correlation between eFBP and FDG is lower in that specific study than between eFMM and FDG images. Similarly, Daerr et al. obtain correlation values of r = 0.59 (p < 0.01) and r = 0.65 (p < 0.01). These values are also lower than the ones presented in this study.

Generally, it can be seen that the correlation values obtained in this study are similar to those reported by previous studies. While those studies used FBP and FBB for the acquisition of early-phase PET-amyloid images, this work is based on the analysis of eFMM images. Therefore, it can be stated that FMM could be a viable radiotracer for the acquisition of early-phase PET-amyloid images. The results presented in this work pave the way for further investigations to study the usefulness and viability of eFMM images as a surrogate for brain FDG images.

4. Conclusions

AD is a serious neurodegenerative disease characterised by specific hypometabolic patterns in brain FDG images. Early-phase PET images acquired up to 10 minutes after the injection of an A β -binding radiotracer are shown to resemble the information of FDG images. Previous studies used FBP and FBB for the acquisition of the earlyphase PET images. In this work, eFMM images are analysed and their correlation to FDG images is quantitatively assessed. The obtained results are comparable to those of studies with other A β -binding radiotracers and show the viability of FMM for early-phase acquisitions.

Acknowledgments

This work is partly supported by an FPU fellowship (Beca de Formación de Profesorado Universitario) from the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (FPU16/06487).

References

- Barthel H, Seibyl J, Sabri O. The role of positron emission tomography imaging in understanding Alzheimer's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics*, vol 15, no 4, 2015, pp 395–406, (ISSN: 17448360).
- [2] Lin KJ, Hsiao IT, Hsu JL, Huang CC, Huang KL, Hsieh CJ, Wey SP, Yen TC. Imaging characteristic of dual-phase 18F-florbetapir (AV-45/Amyvid) PET for the concomitant detection of perfusion deficits and beta-amyloid deposition in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, vol 43, no 7, 2016, pp 1304–1314, (ISSN: 16197089).
- [3] Valentina G, Silvia M, Marco P. Dual-phase amyloid PET: hitting two birds with one stone. *European Journal* of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, vol 43, no 7, 2016, pp 1300–1303, (ISSN: 16197089).
- [4] Hsiao IT, Huang CC, Hsieh CJ, Hsu WC, Wey SP, Yen TC, Kung MP, Lin KJ. Correlation of early-phase 18Fflorbetapir (AV-45/Amyvid) PET images to FDG images: preliminary studies. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, vol 39, no 4, 2012, pp 613–20, (ISSN: 1619-7089).
- [5] Devous MD, Joshi AD, Kennedy I, Navitsky M, Pontecorvo MJ, Skovronsky DJ, Mintun MA. Employing Early Uptake Data from F18-Florbetapir Scans as an Estimate of Regional Cerebral Blood Flow: Comparison to F18-FDG. *Alzheimer's & Dementia*, vol 10, no 4, 2014, p P102, (ISSN: 15525260).
- [6] Daerr S, Brendel M, Zach C, Mille E, Schilling D, Zacherl MJ, Bürger K, Danek A, Pogarell O, Schildan A, Patt M, Barthel H, Sabri O, Bartenstein P, Rominger A. Evaluation of early-phase [18F]-florbetaben PET acquisition in clinical routine cases. *NeuroImage: Clinical*, vol 14, 2017, pp 77–86, (ISSN: 22131582).
- [7] Friston KJ, Ashburner J, Kiebel S, Nichols T, Penny WD. Statistical parametric mapping: the analysis of funtional brain images. Elsevier/Academic Press, 2007, (ISBN: 9780080466507).
- [8] Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, Mazoyer B, Joliot M. Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage*, vol 15, no 1, 2002, pp 273–289, (ISSN: 10538119).
- [9] Rolls ET, Joliot M, Tzourio-Mazoyer N. Implementation of a new parcellation of the orbitofrontal cortex in the automated anatomical labeling atlas. *NeuroImage*, vol 122, 2015, pp 1–5, (ISSN: 10959572).
- [10] Kinahan PE, Fletcher JW. Positron emission tomographycomputed tomography standardized uptake values in clinical practice and assessing response to therapy. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, vol 31, no 6, 2010, pp 496–505, (ISSN: 0887-2171).

Análisis de la diferencia de relación copa-disco de ambos ojos medido manualmente en retinografías y su relación con la presencia de glaucoma

I. Sellés Navarro¹, A. Palazón Cabanes¹, R. Verdú Monedero², J. Morales-Sánchez², I. Pulido de la Paz¹, A. Martínez Jara¹

¹ Hospital General Universitario Reina Sofía, Murcia, España, inmasell@um.es, a.palazoncabanes@gmail.com
² Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España {rafael.verdu, juan.morales}@upct.es

Resumen

El glaucoma es una enfermedad que provoca un daño progresivo e irreversible del nervio óptico, produciendo una reducción del campo visual del paciente. La relación copa-disco (CDR) es uno de los indicadores para el diagnóstico del glaucoma y se basa en una medida de la anatomía del nervio óptico. En este artículo se analiza si la asimetría entre ambos ojos puede ser un indicador diagnóstico de glaucoma. Para ello se ha considerado un conjunto preliminar de una base de datos con retinografías de ambos ojos de doce pacientes sanos y doce pacientes diagnosticados de glaucoma. En cada retinografía, los oftalmólogos han delimitado manualmente el contorno del disco óptico y de la copa para realizar la medida del CDR. A partir de estas medidas, se ha evaluado la asimetría como la diferencia en valor absoluto del CDR de ambos ojos, obteniendo parámetros estadísticos de media y varianza para el grupo de pacientes sanos y con glaucoma. Los resultados sobre el conjunto preliminar de la base de datos indican que existe diferencia en el valor medio de la asimetría entre los pacientes sanos v con glaucoma, pero es necesario aumentar el número de pacientes para reducir la varianza y así esta caracterización pueda ser útil como indicador diagnóstico de glaucoma.

1. Introducción

El glaucoma crónico simple es una de las enfermedades oftalmológicas que con más frecuencia produce pérdida de visión e incluso ceguera en la sociedad actual. Es una enfermedad progresiva del nervio óptico ocasionada por la alta presión intraocular debida a un mal drenaje del líquido ocular [1]. Clínicamente se traduce en una pérdida progresiva e irreversible del campo visual que evoluciona hasta la pérdida total de visión [2]. Actualmente es la segunda causa de ceguera en el mundo y afecta a una de cada doscientas personas menores de cincuenta años y a uno de cada diez mayores de ochenta años [3].

Esta enfermedad es inicialmente asintomática, por lo que generalmente se detecta en estadios muy avanzados cuando sus efectos son irreversibles [4]. Por lo tanto, la detección temprana y la prevención es la única manera de evitar la progresión a la pérdida total de visión. El beneficio que supone el diagnóstico precoz justifica la realización de campañas de cribado, siendo deseable automatizar estos estudios y trasladarlos a los centros de salud de atención primaria con el fin de aumentar la población que se analizará sin aumentar los costes. El glaucoma, que en la mayoría de los casos está asociado con un aumento de la presión intraocular, a menudo produce un ahuecamiento patológico adicional del disco óptico secundario a la muerte de las células ganglionares de la retina cuyo axón constituye cada una de las fibras que forman el nervio óptico. A medida que avanza el glaucoma, la copa (o excavación) se agranda hasta que ocupa la mayor parte del área del disco.

El diagnóstico del glaucoma se basa principalmente en tres estudios: la medida de la presión intraocular mediante tonometría, el examen del campo visual a través de la campimetría, y la medida de la relación entre el área de la copa y el área del disco óptico (*cup-to-disk ratio*, CDR) a partir de las imágenes del fondo del ojo [5]. Un valor alto de la relación copa-disco puede implicar glaucoma u otra patología. Un indicador de glaucoma es un aumento de la copa a medida que el paciente envejece. No obstante, una excavación grande por sí sola no es indicativa de glaucoma: pueden existir copas profundas pero estables sin glaucoma debido a factores genéticos [6].

Estudios previos [7] valoran qué parámetros anatómicos del nervio óptico pueden ser predictivos del daño glaucomatoso de forma precoz, pero hasta la fecha no existe ninguna prueba que por sí misma tenga la suficiente sensibilidad y especificidad para diagnosticar esta enfermedad. Se admite como dato sugerente de patología la asimetría de la excavación papilar entre ambos ojos [8]. Sin embargo, existe escasa información sobre el valor de este hallazgo [9] y si estos datos pueden ser de interés en el diagnóstico precoz del glaucoma.

Una revisión actual de los métodos existentes para la ayuda al diagnóstico de glaucoma puede encontrarse en [10], donde se recoge una reciente y exhaustiva comparativa de los mismos. En esta referencia se puede encontrar asimismo una relación de las bases de datos disponibles de retinografías, ya sean públicas o de acceso restringido (DRIVE [11], STARE [12], MESSIDOR [13], ORIGA [14]). Ni las citadas bases de datos ni ninguna otra que se haya podido localizar [15] contiene imágenes de ambos ojos de un mismo paciente. Por esta razón se está creando una base de datos propia para la investigación en la detección precoz de glaucoma. El trabajo presentado en este artículo se centra en el posible diagnóstico de glaucoma mediante el análisis conjunto de las imágenes retinianas de ambos ojos, utilizando para ello la medida CDR. El daño del nervio óptico se manifiesta en un cambio en la apariencia de la excavación, por lo que su tamaño, y por tanto el valor del CDR, está relacionado con la presencia o ausencia de glaucoma [6]. El valor de CDR se usa comúnmente en oftalmología para evaluar la evolución del glaucoma. Por el centro del disco óptico viajan los vasos sanguíneos que entran (arterias) y salen (venas) de la retina. El borde rosado del disco contiene fibras nerviosas, mientras que la copa blanca es una excavación sin fibras nerviosas. Los valores normales de la relación copa-disco son 0.3-0.4. En este artículo se analiza si la presencia de asimetrías entre los valores de características anatómicas del nervio óptico (en este estudio, la relación copa-disco) de ambos ojos puede considerarse un factor sugerente de padecer glaucoma [8][15] y, por tanto, un indicador de "no normalidad" que permita detectar posibles casos de la patología. El análisis de la precisión diagnóstica de los valores de asimetría para el diagnóstico precoz del glaucoma se ha realizado con un conjunto preliminar de la base de datos que se está creando con retinografías de ambos ojos de un mismo paciente.

2. Método

A continuación se detallan los pasos para evaluar la influencia de la asimetría, valorada como diferencia entre el CDR de cada ojo de un mismo paciente, como indicador diagnóstico de glaucoma.

2.1. Adquisición de imagen

Las retinografías han sido realizadas por el Servicio de Oftalmología del *Hospital Universitario Reina Sofía* (Murcia, España) por medio de una cámara retiniana no midriática *Topcon* TRC-NW400. Estas imágenes de fondo de ojo se han adquirido con una resolución de 1934×2576 píxeles, un ángulo de imagen de 30°, en color (RGB y 8 bits/canal) y almacenadas en formato DICOM. En este trabajo se utiliza un conjunto preliminar de retinografías de ambos ojos de cada paciente mientras se recopila la base de datos completa con ojos sanos y patológicos (neuropatía óptica glaucomatosa).

2.2. Interfaz gráfica

Para facilitar la tarea de delimitación de contornos a los expertos oftalmólogos se ha desarrollado una interfaz gráfica en Matlab y posteriormente se ha creado una aplicación que se puede ejecutar independientemente de Matlab. Las principales características de la aplicación son las siguientes:

- Visualización de retinografías en color, en cada una de sus componentes R, G o B, o en nivel de gris (luminancia). Posibilidad de zoom (alejar y acercar la imagen) así como la selección manual o automática del rango dinámico de visualización de la imagen.
- Establecimiento manual de puntos para el contorneado del disco óptico y excavación.

- Almacenamiento de los puntos establecidos en un fichero de texto (con referencia a la imagen correspondiente y al contorno).
- Lectura de los puntos de un contorno desde un fichero de texto y representación sobre la retinografía.



Figura 1. Interfaz gráfica desarrollada para facilitar el proceso de delimitación manual de contornos.



Figura 2. Retinografías con los contornos del disco óptico y la copa realizados manualmente por dos expertos oftalmólogos (Ana Palazón Cabanes, APC, e Inmaculada Sellés Navarro, ISN). En la primera fila se muestra un paciente con glaucoma y en la segunda fila un paciente sin patologías; en la columna de la izquierda se muestra el ojo izquierdo y en la columna derecha se muestra el ojo derecho de cada paciente.

La Figura 1 contiene una captura con el aspecto de la aplicación cuando se están estableciendo los puntos del contorno del disco óptico. En la Figura 2 se muestran retinografías del ojo derecho (OD) y ojo izquierdo (OS) de un mismo paciente, con los contornos delimitados por los dos expertos oftalmólogos (Ana Palazón Cabanes, APC, e Inmaculada Sellés Navarro, ISN).

2.3. Cálculo de CDR

Una vez que están disponibles los contornos de la excavación y del disco óptico generados manualmente por los oftalmólogos, se procede al cálculo del ratio entre el diámetro de la excavación y el diámetro del disco óptico (*cup-to-disc ratio*, CDR). Para el cálculo del CDR, los nodos establecidos manualmente por los expertos oftalmólogos mediante la interfaz gráfica se interpolan con b-splines cúbicos [16] y se calcula el área de la curva que delimita el disco óptico y el área de la curva que delimita la excavación. El valor de CDR viene dado por

$$CDR_S = \sqrt{\frac{S_{CUP}}{S_{OD}}},$$
(1)

que aproxima al área del disco óptico y la excavación, por $S_{OD} = \pi \left(\frac{d_{OD}}{2}\right)^2$ y $S_{CUP} = \pi \left(\frac{d_{CUP}}{2}\right)^2$, respectivamente.



Figura 3. Resultados de CDR en pacientes con glaucoma (primera columna) y sanos (segunda columna). En azul se muestra los valores de CDR del ojo derecho de cada paciente, en rojo los del ojo izquierdo, y, en verde, la diferencia en valor absoluto entre ambos. Las gráficas de cada fila se corresponden a los resultados proporcionados por cada oftalmólogo.



Figura 4. Distribución de resultados de diferencia, en valor absoluto, entre CDR de ambos ojos en pacientes con glaucoma (rojo) y sanos (azul). En línea discontinua se muestra el valor medio de cada grupo (clase G de pacientes con glaucoma, en rojo; y grupo S de pacientes sanos, en azul) considerando conjuntamente los resultados de ambos oftalmólogos.

	μ_G	σ_G^2	μ_S	σ_S^2
APC	0.1099	0.0132	0.0452	0.0011
ISN	0.0995	0.0046	0.0516	0.0037
APC + ISN	0.1047	0.0085	0.0483	0.0023

Tabla 1. Valor medio y varianza de los valores de asimetría en el grupo de pacientes con glaucoma y sanos, con los contornos de cada oftalmólogo (primera y segunda fila) y los contornos de ambos a la vez (tercera fila).

2.4. Análisis de la asimetría

Después de calcular para el paciente *i*-ésimo el CDR del ojo derecho y del ojo izquierdo, CDR_{OD_i} y CDR_{OS_i} , respectivamente, el siguiente paso es calcular la diferencia, en valor absoluto, entre el valor de CDR de cada ojo del paciente

$$\Delta_i = |CDR_{OD_i} - CDR_{OS_i}|. \tag{2}$$

3. Resultados

La Figura 3 muestra los resultados de CDR calculados para el grupo de pacientes sanos y con glaucoma con los contornos de dos oftalmólogos. La línea azul muestra los valores de CDR del ojo derecho de cada paciente mientras que la línea roja muestra los del ojo izquierdo. La línea verde muestra la diferencia, en módulo, entre ambos valores y se puede apreciar como esta diferencia es, en general, mayor en el conjunto de pacientes con glaucoma.

Para la caracterización estadística de estos resultados se va a calcular el valor medio de la diferencia de CDRs

$$\mu = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \Delta_i, \tag{3}$$

así como la varianza

$$\sigma^{2} = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N} (\Delta_{i} - \mu)^{2}, \qquad (4)$$

tanto para el conjunto de pacientes con glaucoma (μ_G , σ_G^2), como para el conjunto de pacientes sanos (μ_S , σ_S^2). La Tabla 1 recoge los resultados calculados de media y varianza para cada grupo de pacientes, teniendo en cuenta los contornos realizados por cada uno de los oftalmólogos, (APC e ISN, *N*=12) y conjuntamente por los dos (APC+ISN, *N*=24). La Figura 4 muestra la distribución de valores de asimetría para los pacientes sanos en azul y de los pacientes con glaucoma en rojo considerando los resultados proporcionados por los dos oftalmólogos. Las líneas discontinuas muestran el valor medio de cada grupo, siendo el valor más pequeño el correspondiente a la media de los pacientes sanos.

La Figura 5 representa la diferencia absoluta media entre los valores de CDR medidos para pacientes sanos y con glaucoma. Concretamente, para un límite de significancia estadística p = 0.05 en una prueba simple t de *Student* se ha obtenido para las medidas de ISN un p-valor = 0.033, para las medidas de APC el p-valor es 0.077, y considerando las medidas de APC+ISN se obtiene p-valor = 0.0067. Cuando el p-valor es menor que 0.05 la diferencia entre las medidas de pacientes con glaucoma en relación a los sanos son estadísticamente significativas. Como se observa en la Figura 5 y en los valores anteriores de p-valor, la diferencia comienza adquirir significación estadística (los intervalos se estrechan y no solapan) conforme se aumenta el número de medidas incluidas en el computo estadístico, y más concretamente cuando se consideran conjuntamente los valores de CDR medidos por ambos expertos (APC+ISN). Este hecho validaría la hipotesis de que la asimetría entre los valores de CDR medidos en ambos ojos puede ser indiciaria de glaucoma.



Figura 5. Valor medio de la diferencia (en valor absoluto) de CDR entre pacientes sanos y con glaucoma, junto con el intervalo de confianza de la media verdadera a un nivel del 95%.

4. Conclusiones

Este artículo muestra los primeros resultados sobre la relación entre la asimetría de parámetros anatómicos de ambos ojos y la presencia de glaucoma. El estudio se ha realizado con un conjunto preliminar de retinografías, junto con la delimitación manual del disco óptico y excavación realizada por dos expertos oftalmólogos. Los resultados de este análisis muestran que, aunque es necesario aumentar el número de casos de estudio para que tenga significancia estadística, sí puede existir relación entre la diferencia del valor de CDR entre ambos ojos (asimetría) y la presencia de glaucoma. Como líneas de continuación se está ampliando la base de datos con más retinografías y sus contornos, así como la comparativa entre los contornos proporcionados por oftalmólogos y métodos automáticos.

Agradecimientos

Este trabajo está financiado parcialmente por los proyectos nacionales AES2017-PI17/00771 y AES2017-PI17-00821 del Instituto de Salud Carlos III y por el proyecto regional 20901/PI/18 de la Fundación Séneca.

Referencias

[1] Mantravadi AV, Vadhar N, Glaucoma, *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 42(3):437-449, 2015.

- [2] Kwon YH, Figert JH, Kuehn MH, Alward WL. Primary open-angle glaucoma. N Engl J Med., 360(11):1113-1124, 2009.
- [3] Vos T. et al., Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015, *The Lancet*, 388(10053):1545-1602, 2016
- [4] Sommer A, Katz J, Quigley HA, Miller NR, Robin AL, Richter RC, Witt KA, Clinically Detectable Nerve Fiber Atrophy Precedes the Onset of Glaucomatous Field Loss. *Archives of Ophthalmology*, 109(1):77-83, 1991
- [5] Nath M.K., Dandapat S., Techniques of glaucoma detection from color fundus images: a review, *Int. J. of Image, Graphics and Signal Processing*, 4(9):44-51, 2012.
- [6] Antón, A., Moreno-Montañes J, Blázquez F, Alvarez A, Martín B, Molina B, Usefulness of OCT parameters of the optic disc and the retinal nerve fiber layer to differentiate glaucomatous, ocular hypertensive, and normal eyes. *Journal of Glaucoma* 16(1):1-8 (2007)
- [7] Jonas, J.B., Fernández, M.C., Naumann, G.O.H.: Glaucomatous Parapapillary Atrophy: Occurrence and Correlations. Arch. Ophthalmology 110(2):214-222, 1992
- [8] Varma R, Tielsch JM, Quigley HA, Hilton SC, Katz J, Spaeth GL, Sommer A. Race-, age-, gender-, and refractive error-related differences in the normal optic disc. *Arch Ophthalmol.* 112(8):1068-1076, 1994
- [9] Ong, L.S., Mitchell P, Healey PR, Cumming RG, Asymmetry in optic disc parameters: the Blue Mountains Eye Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40(5):849-857, 1999
- [10] Almazroa A., Burman R, Raahemifar K, Lakshminarayanan V, Optic Disc and Optic Cup Segmentation Methodologies for Glaucoma Image Detection: A Survey, *Journal of Ophthalmology*, 1-28, 2015.
- [11] http://www.isi.uu.nl/Research/Databases/DRIVE
- [12] http://cecas.clemson.edu/~ahoover/stare
- [13] <u>http://www.adcis.net/en/Download-Third-</u> Party/Messidor.html
- [14] Zhang, Z., Yin FS, Liu J, Wong WK, Tan NM, Lee BH, Cheng J, Wong TY, Origa-light: An online retinal fundus image database for glaucoma analysis and research. *Int Conf IEEE Engineering in Medicine and Biology*, 2010
- [15] Fumero F., Alayon S, Sánchez JL, Sigut J, González-Hernández J, RIM-ONE: An Open Retinal Image Database for Optic Nerve Evaluation, 24th IEEE Int. Symposium on Computer-Based Medical Systems, 2011.
- [16] Armaly MF. Genetic determination of cup/disc ratio of the optic nerve. Arch Ophthalmol. 78:5-43, 1967
- [17] Unser, M., Aldroubi, A., Eden, M.: B-spline signal processing: Part I-theory; Part II-efficient design and applications. *IEEE Trans. Signal Processing* 41:821–848, 1993

Algoritmo basado en redes neuronales recurrentes para la detección de ritmos desfibrilables

X. Jaureguibeitia¹, U. Irusta¹, E. Aramendi¹, B. Chicote¹, D. Alonso², C. Corcuera², J. Veintemillas², A. Larrea², M. Olabarria²

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

² Emergentziak-Osakidetza, Servicio Vasco de Salud (Osakidetza) Bilbao, España,

{danielfrancisco.alonsomoreno, carlos.corcuerabergado, josefrancisco.veintemillasvidal, andima.larrearedin, mikel.olabarriaibarreche}@osakidetza.eus

Resumen

La desfibrilación es crítica para la supervivencia en episodios de parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria (PCREH), por lo que los desfibriladores externos automáticos (DEA) incorporan algoritmos para la detección de ritmos desfibrilables. En este trabajo se emplearon 852 casos de PCREH con 4216 ventanas de análisis del ritmo del DEA. Seis expertos anotaron ECG como desfibrilable / no-desfibrilable y el diagnóstico mayoritario se empleó como referencia. Se obtuvieron 12185 segmentos ECG de 4s, que se particionaron por paciente en subconjuntos para desarrollar (70%) y evaluar (30%) un algoritmo de análisis de ritmo. El algoritmo se compone de una etapa de descomposición subbanda y una red neuronal recursiva. El mejor modelo presentó una sensibilidad (Se) de 97.6% y una especificidad (Sp) de 98.3%, cumpliendo holgadamente con las especificaciones mínimas para uso clínico del 90% de Se y 95% de Sp.

1. Motivación

La parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria (PCREH) representa un problema de salud pública de primera magnitud, con una tasa de incidencia estimada de unos 55 casos por cada 100.000 habitantes y año, y ratios de supervivencia muy reducidos, de en torno al 10% [1]. Los primeros minutos de un episodio de PCREH son críticos para el éxito de la resucitación. Arritmias ventriculares letales tales como la fibrilación ventricular (FV) o la taquicardia ventricular (TV) se presentan con prevalencias por encima del 70%, y las tasas de supervivencia pueden alcanzar el 50% cuando se aplica terapia de desfibrilación [2]. Estos valores decrecen rápidamente con el tiempo. Por cada minuto que transcurre sin que una descarga sea aplicada, la probabilidad de supervivencia se reduce en un 3-4%, o hasta en un 10-12% si tampoco se administra terapia de resucitación cardiopulmonar (RCP) [3]. De forma similar, las arritmias ventriculares eventualmente degeneran en asistolia (AS) o actividad eléctrica sin pulso (AESP), ritmos inmunes a la desfibrilación y con peor pronóstico clínico en general. Atendiendo a todo esto, y considerando un tiempo medio de respuesta de varios minutos para los servicios médicos de emergencia (SME) [4], la intervención por parte de testigos presenciales y el acceso rápido a un desfibrilador externo automático (DEA) pueden resultar determinantes para la supervivencia del paciente.

La terapia de desfibrilación no puede ser administrada de forma arbitraria. Una descarga aplicada a un paciente con pulso efectivo puede desencadenar por sí misma un evento de parada. Aun cuando la patología del paciente se corresponde con PCREH, la desfibrilación de una AESP o una asistolia no solo es ineficaz, sino que conlleva también posibles daños en el miocardio y pausas innecesarias de la terapia RCP, lo que merma las opciones de supervivencia [5,6]. Cualquier intento de desfibrilación debe, por tanto, ir precedido de un análisis del estado cardíaco del paciente. En este sentido, y de cara a su empleo por parte de personas sin formación médica, los DEAs incorporan algoritmos automáticos para el análisis de ritmo y la discriminación de arritmias desfibrilables.

El desarrollo de estos algoritmos ha sido objeto de estudio durante décadas. La American Heart Association (AHA) estableció los mínimos de precisión exigibles en un 90% de sensibilidad para detección de FV (75% para TV) y un 95% de especificidad para ritmos no desfibrilables [7]. La literatura sobre detección de FV es extensa [8,9], pero pocos trabajos se han realizado empleando datos de casos reales de PCREH. En los últimos años, las técnicas de aprendizaje automático han permitido el uso conjunto de las características más relevantes de la bibliografía y su evaluación sobre datos PCREH [10]. Más recientemente aún, las técnicas de aprendizaje profundo han permitido abordar el problema sin mayor información que la propia señal ECG [11].

Este trabajo emplea datos reales de episodios PCREH y plantea un abordaje de clasificación novedoso, basado en redes neuronales recursivas y descomposición subbanda mediante transformada wavelet estacionaria (*stationary wavelet transform*, SWT).

2. Materiales

El trabajo se sustenta en los registros de 852 episodios de PCREH tratados por los SME de Osakidetza entre 2013 y 2015. En todos los casos se emplearon DEAs del modelo LP1000 (Stryker/PhysioControl, Redmond, WA, EEUU), que registra la señal ECG con ancho de banda 0.5–21Hz y una frecuencia de muestreo de 125Hz. Los datos de los DEAs se convirtieron a formato MATLAB (MathWorks, Natick, MA, EEUU) y se desarrolló una herramienta para la visualización y anotación de los casos. Se identificaron todas las ventanas de análisis automático de ritmo de los DEAs. El tipo de ritmo observado en cada ventana fue anotado de forma independiente por 6 clínicos expertos en PCREH. Los ritmos se identificaron como VF o TV, para los casos desfibrilables; y para los no desfibrilables como AS o ritmo organizado (ORG), exigiendo a estos últimos un mínimo de 12 latidos por minuto. El consenso entre diagnósticos fue elevado, con kappa de Fleiss de 0.93 para la distinción entre ritmos desfibrilables y no desfibrilables. El diagnóstico mayoritario se estableció como referencia (ground truth). Se excluyeron aquellas ventanas con ritmos intermedios o no consensuados, transiciones de ritmo o calidad de señal especialmente degradada. Se obtuvieron 4216 ventanas, 498 de ritmos desfibrilables y 3718 de no desfibrilables. Por último, cada ventana fue dividida en segmentos no solapados de 4s, orientando así el diseño y evaluación de los modelos a pausas razonables en la terapia RCP. Como beneficios adicionales, se consiguieron tanto un aumento del volumen de datos como la normalización de la duración de los segmentos ECG, muy convenientes para las técnicas de aprendizaje profundo empleadas. Se obtuvieron un total de 12185 segmentos, 2244 de ritmos desfibrilables y 9941 de no desfibrilables. El desglose de ventanas y segmentos por tipo de ritmo se presenta en la Tabla 1.

	Ventanas		Segmentos	
	Ν	%	Ν	%
FV	461	10.93	2107	17.29
TV	37	0.88	137	1.12
AS	2418	57.35	5687	46.67
ORG	1300	30.83	4254	34.91
Defib.	498	11.81	2244	18.42
No defib.	3718	88.19	9941	81.58

Tabla 1. Base de datos. Distribución de ritmos

3. Métodos

3.1. Descomposición SWT

Los experimentos preliminares del estudio revelaron una mejor convergencia de la red neuronal recurrente cuando la entrada incluía múltiples canales. En este sentido, se optó por realizar una descomposición SWT de la señal ECG, lo que posibilitaría también el empleo de técnicas de cancelación de ruido.

La SWT se basa en la aplicación recursiva de dos filtros h(n) y g(n), de norma unitaria y longitud L, que se derivan de una wavelet madre específica, y satisfacen las condiciones de ortogonalidad interna y cruzada necesarias para constituir un par de filtros espejo en cuadratura (*quadrature mirror filter*, QMF). La respuesta frecuencial de estos filtros es simétrica respecto de $\pi/2$, la frecuencia central de la banda a descomponer.

Para una señal de entrada s(n), la información de banda alta se obtiene por convolución con $g_1(n) = g(n)$ y se identifica como coeficientes de detalle de primer nivel $d_1(n)$. De forma similar, la información de banda baja se recoge en los denominados coeficientes de aproximación de primer nivel $a_1(n)$, del filtrado con $h_1(n) = h(n)$. Tal y como se muestra en la Figura 1, niveles sucesivos de descomposición pueden ser obtenidos aplicando el mismo procedimiento a los coeficientes de aproximación del nivel previo, de modo que $d_j(n) = a_{j-1}(n) * g_j(n) y a_j(n) =$ $a_{j-1}(n) * h_j(n)$. Los coeficientes de los filtros $h_j(n) y$ $g_j(n)$ se obtienen de los nivel inmediatamente anterior mediante sobremuestreo de factor 2 por inserción de ceros, tal que para *L* longitud de h(n) y g(n):

$$f_j(n) = \begin{cases} f\left(\frac{n}{2^{j-1}}\right) & n = 2^{j-1}k; \ k = 1, 2, \dots L \\ 0 & \text{En otro caso} \end{cases}$$
(1)

para $j \ge 1$ y $f \in \{h, g\}$.



Figura 1. Diagrama SWT para 3 niveles de descomposición

En lo específico al modelo que se presenta, la señal de ECG fue submuestreada con factor 2 y luego descompuesta en 5 niveles SWT. El submuestreo inicial responde al filtrado interno del DEA, que elimina toda información en esas bandas. Los coeficientes de detalle obtenidos constituyen los canales de entrada a la red neuronal. La componente de aproximación a_5 , que contiene la información ≤ 1 Hz, no se consideró relevante y fue descartada. Los filtros de la SWT correspondieron a una wavelet Daubechies-2.

3.2. Cancelación de ruido

La cancelación de ruido se abordó empleando el método de umbralización universal [12], con el valor del umbral dado por:

$$\delta = \frac{\sqrt{2 \ln L}}{0.6745} med\{|d_1 - med\{d_1\}|\}$$
(2)

donde *L* es la longitud de la señal, en muestras. El ruido se cancela mediante *soft-thresholding*.

La estimación del nivel de ruido se realiza típicamente sobre el primer nivel de detalle de la SWT (d_1 en la ecuación (2)), asumiendo que este contiene principalmente ruido e información muy localizada sin apenas efecto en el cálculo de la mediana. Debido al submuestreo aplicado, este primer nivel se corresponde con la banda 16.125-31.25Hz y contiene información relevante de señal. Como alternativa, se obtuvieron los coeficientes d_1 de la señal original, sin aplicar submuestreo, los cuales corresponden a la banda de frecuencias 31.25-62.5Hz.

3.3. Red Neuronal Recurrente

El esquema general de la arquitectura de red propuesta se representa en la Figura 2. La red consta de 3 bloques: dos bloques recurrentes bidireccionales basados en unidades GRU (Gated Recurrent Unit) [13] y un bloque final de clasificación. El primer bloque GRU recibe las secuencias de entrada: los 5 canales de descomposición SWT, con 250 muestras de longitud cada uno, y genera a su salida 48 secuencias de la misma longitud. El segundo bloque trabaja sobre estas secuencias, generando una única característica de salida por cada una de las 8 unidades que lo componen. Cada bloque GRU incluye una capa de dropout. Durante el entrenamiento, estas capas seleccionan de forma aleatoria una proporción p de unidades, que son desactivadas. La disposición variable de unidades fuerza a la red a distribuir la información, evitando así patrones muy específicos y reduciendo el sobreajuste. El bloque final de clasificación consta de una única neurona, conectada a cada una de las salidas del segundo bloque GRU. Esta neurona aplica una función lineal a las características obtenidas, y alimenta una función de activación sigmoide, obteniendo un valor entre 0 y 1 que puede interpretarse como una estimación de probabilidad. El diagnóstico del clasificador se obtiene entonces por umbralización simple, con umbral de 0.5.



Figura 2. Arquitectura de la red neuronal recurrente

3.4. Evaluación del modelo

El conjunto de ventanas de análisis fue particionado por pacientes en grupos de entrenamiento (70%) y validación (30%). Esta división se realizó por muestreo aleatorio estratificado, conservando para cada grupo la proporción global de ritmos. Se crearon 100 particiones diferentes a fin de evaluar la variabilidad estadística del modelo. Cada segmento *i* fue etiquetado con $y_i \in \{0,1\}$ en función del ritmo anotado. La clase positiva y = 1 fue asignada a los ritmos desfibrilables (FV, TV), mientras que y = 0 se asoció a los no desfibrilables (AS, ORG).

A fin de evitar un sesgo hacia las ventanas más largas, con más segmentos asociados, cada segmento fue caracterizado con un peso w, igual al inverso del total de segmentos en su correspondiente ventana de origen. Estos pesos se utilizaron tanto para el entrenamiento de la red neuronal como para el cálculo de las métricas de rendimiento. Se definieron también dos modelos diferentes en función del balanceo de clases: un modelo balanceado (B), para el que se emplearon pesos adicionales con el fin de equiparar la importancia de ambas clases, y un modelo empírico (E), sin balanceo.

Para cada uno de los experimentos se determinaron sobre el grupo de validación el número de verdaderos positivos (VP) y negativos (FP), así como los falsos positivos (FP) y negativos (FN). Se obtuvieron así la sensibilidad (Se), especificidad (Sp), precisión (Acc) y precisión balanceada (BAC):

Se =
$$\frac{VP}{VP + FN}$$
 Acc = $\frac{VP + VN}{VP + FP + VN + FN}$
Sp = $\frac{VN}{VN + FP}$ BAC = $\frac{Se + Sp}{2}$

4. Resultados

Los resultados obtenidos para las métricas de rendimiento se muestran en la Tabla 2.

	Modelo B	Modelo E
Se	97.6 (94.8 - 98.8)	95.5 (92.2 - 97.5)
Sp	98.3 (97.1 – 99.2)	99.1 (98.5 - 99.5)
Acc	98.2 (97.2 - 98.8)	98.6 (98.2 - 99.0)
BAC	97.7 (96.9 - 98.4)	97.4 (95.8 - 98.1)

Tabla 2. Valor mediano (rango interdecil) de las métricas de rendimiento sobre las 100 particiones utilizadas.

El modelo empírico presentó valores de especificidad y precisión significativamente más altos, a cambio de una caída en sensibilidad, resultado previsible dado el fuerte desbalanceo de clases.

Se analizó también la precisión de los modelos para los subtipos anotados dentro de las clases. Los resultados de este análisis se recogen en la Tabla 3.

	Modelo B	Modelo E
FV	98.8 (97.0 - 99.7)	97.1 (94.7 – 98.5)
TV	81.9 (61.7 – 96.1)	75.5 (54.4 - 90.3)
AS	99.0 (98.0 - 99.6)	99.6 (99.2 - 99.9)
ORG	97.1 (95.4 - 98.6)	98.3 (97.1 - 99.2)

Tabla 3. Precisión mediana (rango interdecil) para los ritmos concretos diferenciables dentro de las clases.

Se vuelve a observar cómo el modelo empírico favorece la detección de ritmos no desfibrilables. Destacan, por otro lado, los valores para AS y TV. Si bien son mayores en el modelo empírico, las métricas para AS se mantienen elevadas para ambos modelos. Esto es probablemente debido a la fuerte presencia de la AS en la base de datos (ritmo mayoritario, 57% de las ventanas). El caso opuesto sucede para la TV, para la que solo se dispuso de 37 ventanas (ritmo minoritario, <1% de las ventanas).

A modo ilustrativo, en la Figura 3 se muestran una serie de ejemplos, uno para cada tipo de ritmo, de diagnósticos acertados y errados por ambos modelos (la partición fue escogida al azar).



Figura 3. Clasificaciones correctas (azul) e incorrectas (rojo) para cada tipo de ritmo, en segmentos de 4s. Se ofrece una versión amplificada (x10) de la AS para apreciar el detalle.

5. Conclusiones

El algoritmo cumplió holgadamente las especificaciones generales de rendimiento marcadas por la AHA (90% de Se y 95% de Sp). Falló, no obstante, en especificaciones menores relacionadas con la TV. Si bien el valor medio se mantuvo en el 75% de Se exigido, el valor al 90% de confianza no alcanzo el 67%. Este problema es fácilmente atribuible a la escasa disponibilidad de segmentos de TV, y se antoja sencillo de subsanar mediante técnicas de *data augmentation*. Tampoco fue posible evaluar la Sp mínima de 99% para ritmo sinusal normal (subtipo de ORG), pues estos ritmos no se presentan durante PCREH. Si bien el número de registros empleado se mostró suficiente para generar modelos efectivos, un mayor volumen de datos podría ayudar a reducir la variabilidad de los resultados.

En términos más generales, el modelo es aún susceptible de ciertas mejoras. El filtrado aplicado por el DEA impidió un uso ideal de la umbralización universal, con lo que otros métodos de cancelación de ruido podrían ser explorados. De forma similar, la fuerte presencia de AS, caracterizada por niveles muy bajos de señal, impidió el uso de los métodos habituales de normalización, algo muy deseable en redes recursivas dado el uso extensivo de funciones sigmoide y tangente hiperbólica. No se realizó análisis alguno de las posibles wavelets en las que basar la SWT, aunque estudios anteriores sugieren que no es relevante [14]. Tampoco se analizó la importancia relativa de los diferentes niveles de detalle. La arquitectura de la propia red queda también abierta a un ajuste más fino de los parámetros y a técnicas de regularización, así como a la optimización con técnicas de validación cruzada.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido ayuda financiera del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, proyecto RTI2018-101475-BI00, junto con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), y del Gobierno Vasco mediante la subvención a grupos de investigación IT-1229-19.

Referencias

- [1] Berdowski J, Berg RA, Tijssen JGP, Koster RW. Global incidences of out-of-hospital cardiac arrest and survival rates: Systematic review of 67 prospective studies. *Resuscitation*, vol 81, 2010, pp 1479-1487.
- [2] Berdowski J, Blom MT, Bardai A. Impact of onsite or dispatched automated external defibrillator use on survival after out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation*, vol 124, 2011, pp 2225-2232.
- [3] Perkins GD, Handley AJ, Koster RW, et al. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015 Section 2. Adult basic life support and automated external defibrillation. Resuscitation, vol 95, 2015, pp 81-99.
- [4] Daya MR, Schmicker RH, Zive DM, et al. Out-of-hospital cardiac arrest survival improving over time: Results from the Resuscitation Outcomes Consortium (ROC). Resuscitation, vol 91, 2015, pp 108-115.
- [5] Xie J, Weil MH, Sun S, et al. High-energy defibrillation increases the severity of postresuscitation myocardial disfunction. *Circulation*, vol 96, 1997, pp 683-688.
- [6] Cheskes S, Schmicker RH, Christenson J, et al. Perishock pause: an independent predictor of survival from out-ofhospita shockable cardiac arrest. *Circulation*, vol 124, 2011, pp 58-66.
- [7] Kerber RE, Becker LB, Bourland JD, et al. Automatic External Defibrillators for Public Access Defibrillation: Recommendations for Specifying and Reporting Arrhythmia Analysis Algorithm Performance, Incorporating New Waveforms, and Enhancing Safety. *Circulation*, vol 95, 1997, pp 1677-1682.
- [8] Amman A, Tratnig R, Unterkofler K. Reliability of old and new ventricular fibrillation detection algorithms for automated external defibrillators. *Biomedical Engineering Online*, vol 4, 2005.
- [9] Aramendi E, Irusta U, Pastor E, et al. ECG spectral and morphological parameters reviewed and updated to detect adult and paediatric life-threatening arrhythmia. *Physiological Measurement*, vol 31, 2010, pp 749-761.
- [10] Figuera C, Irusta U, Morgado E, et al. Machine Learning Techniques for the Detection of Shockable Rhythms in Automated External Defibrillators. *PloS one*, vol 11 2016.
- [11] Picón A, Irusta U, Álvarez-Gila A, et al. Mixed convolutional and long short-term memory network for the detection of lethal ventricular arrhythmia. *PloS one*, vol 14, 2019.
- [12] Donoho DL. De-noising by soft-thresholding. IEEE Transactions on Information Theory, vol 41, 1995, pp 613-627.
- [13] Cho K, van Merriënboer B, Gulcehre C, et al. Learning Phrase Representations using RNN Encoder-Decoder for Statistical Machine Translations. arXiv 1406.1078v3, 2014.
- [14] Isasi I, Irusta U, Elola A, et al. A Machine Learning Shock Decision Algorithm for Use During Piston-Driven Chest Compressions. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, vol 66, 2019, pp 1752-1760.

Localización Mejorada de Activaciones Dominantes en Fibrilación Auricular Mediante Detección Multicanal

A. Vraka¹, D. Osorio¹, V. Bertomeu González.², A. Ibáñez Criado³, R. Alcaraz Mtz.⁴, J.J. Rieta¹

¹ BioMIT.org, Dep. Ingeniería Electrónica, Universitat Politecnica de Valencia, España, {aivra, dosorio, jjrieta}@upv.es
 ² Departamento de Cardiología, Hospital Universitario de San Juan, Alicante, España, vbertog@gmail.com
 ³ Unidad de Arritmias, Serv. de Cardiología, Hospital General Universitario de Alicante, España, aliciaicriado@gmail.com
 ⁴ Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

Resumen

La detección de ondas de activación local (OALs) en electrogramas (EGMs) auriculares complejos y fragmentados (EACFs) de fibrilación auricular (FA) es necesaria para guiar la ablación por catéter (AC) fuera de las venas pulmonares, pero es complicada por la gran variabilidad de los EACFs. Los algoritmos existentes analizan canales secuencialmente sin considerar la repetitividad entre canales, que es clave en los mecanismos que perpetúan la FA. El método propuesto analiza EACFs multicanal de FA globalmente para detectar OALs, empezando por el EGM menos fragmentado y verificando la presencia de OALs similares en los demás. En cada EGM se realizó una anotación manual de las activaciones y se aplicó preprocesado reductor de ruido, filtrado paso-banda y umbralización. Se buscaron automáticamente las OALs en el primer EGM según criterios de umbral y longitud de ciclo (LC). En los demás EGMs se buscaron OALs similares en una ventana temporal variable por frecuencia de aparición en EGMs previos, seguida de una búsqueda basada en LC. El paso final descartó activaciones de baja amplitud y baja repetitividad entre canales, reduciendo posibles tendencias introducidas por el primer EGM. El método se comparó con una estrategia monocanal secuencial y se obtuvieron mejores resultados de precisión (90.82%) y predictividad positiva (96.52%), frente a la estrategia monocanal (89.65 % y 92.7 %, respectivamente). El análisis multicanal ha sido más selectivo detectando OALs con presencia en varios canales y descartando OALs presentes en canales puntuales. El método permite localizar mejor los focos arritmogénicos auriculares para ayudar al guiado de ablación en FA.

1. Introducción

Con más de 20 millones de casos detectados en hombres y 12 millones en mujeres, la fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardiaca más común en el mundo [1]. La ablación por catéter (AC) se ha constituido como la primera línea de terapia para la restauración del ritmo sinusal en pacientes con FA [2]. Durante el proceso de AC, se emplean señales de radiofrecuencia de alta energía que provocan cicatrices en el tejido cardíaco, aislando las áreas que muestran propiedades arritmogénicas o perpetuantes de FA [3]. Para realizar este procedimiento, existe la necesidad de disponer de una cartografía en tiempo real del comportamiento eléctrico del tejido auricular que sea fiel y precisa y que, por tanto, posibilite al equipo médico realizar eficazmente la AC al mismo tiempo que se ofrezca una perspectiva más completa del sustrato fisiopatológico que presenta la FA en cada paciente [4].

Para poder definir este sustrato fisiopatológico, es muy importante comprender profundamente los mecanismos que generan o perpetúan la FA. Las venas pulmonares (VPs) son los focos principales de FA [3] y, en consecuencia, el aislamiento de venas pulmonares (AVP) es hasta ahora el tratamiento de FA paroxística más frecuentemente utilizado. Un paciente se clasifica con FA paroxística cuando la arritmia se presenta con episodios esporádicos que tienen terminación espontánea en menos de una semana [1].

El mismo tratamiento de AC muestra una tasa de recurrencia más elevada en el caso de FA persistente, ya que esta etapa de la enfermedad es más complicada por no tener terminación espontánea y haberse producido remodelado en el tejido auricular [5]. En FA persistente, las activaciones ectópicas no sólo están limitadas a las VPs sino que también pueden aparecer en otras zonas auriculares y del seno coronario (SC), favoreciendo la transmisión de la actividad fibrilatoria reentrante, formando parte así del llamado mecanismo perpetuante de la FA [6]. Por esta razón, en pacientes con FA persistente, es una técnica bastante común hacer uso de una combinación de ablación de las VPs junto con ablación en otras zonas fuera de éstas en las que se ha comprobado que existe favorecimiento o perpetuación de la actividad arritmogénica [7].

Es conocido que aquellas zonas auriculares con actividad focal arritmogénica o perpetuante de la FA suelen producir electrogramas (EGMs) de elevado nivel de desorganización [8]. Una categoría muy especial de EGMs y con un interés crucial en la investigación en FA son los electrogramas auriculares complejos fragmentados (EACFs). Los EACFs se caracterizan por desviaciones múltiples de la línea isoeléctrica y/o por activaciones con actividad eléctrica continua sin línea isoeléctrica [9]. Debido a la alta complejidad de estos EGMs y la ausencia frecuente de activaciones claras, la detección de ondas de activación local (OALs) en dichos registros suele ser una misión muy tediosa, con resultados ambiguos que, obviamente, pueden conllevar implicaciones en el tratamiento de FA cuando se pretende realizar una AC guiada por detección de EACFs [10].

Desde la aparición de los sistemas de navegación electroanatómica, la detección de OALs ha venido siendo un tema muy investigado, existiendo en la literatura enfoques diferentes. Así, algunos autores han hecho uso de un umbral adaptativo, basando su análisis en la similitud morfológica de formas de onda de los EGMs [11]. En cambio, otros se han concentrado en la periodicidad de las activaciones, estando ésta en función de la frecuencia dominante (FD) de los EGMs [12]. Sin embargo, esta aproximación corre el riesgo de presentar un bajo rendimiento en el caso de EACFs, en los que la FD puede variar muy significativamente. Finalmente, la detección de activaciones basada en la longitud de ciclo (LC) ha sido una técnica alternativa con resultados también satisfactorios [13].

Todas las técnicas anteriormente mencionadas analizan cada canal EGM separadamente. Sin embargo, el catéter de registro es un sistema mutlicanal en donde, cada uno de los cuales, captura el avance del frente de onda existente de forma simultánea. Normalmente, en electrofisiología se buscan OALs similares en una ventana temporal fija a lo largo de todos los canales del catéter ya que, así, es más sencillo localizar patrones repetitivos de activación que correspondan a las dinámicas de FA dominantes. Esto permite obtener resultados mas precisos y robustos, especialmente en el caso de EACFs. Precisamente, el método de detección de OALs multiderivación propuesto en este trabajo beneficia la repetitividad de OALs en canales vecinos sin ignorar activaciones de amplitud alta que no estén significativamente repetidas, asegurando una detección de OALs mas eficiente.

2. Materiales

La base de datos empleada estuvo compuesta por 34 registros multicanal de EGMs bipolares con FA que fueron obtenidos, tras el consentimiento informado de cada paciente, durante procedimientos de AC por un sistema LabSystem[®] Pro (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) con una frecuencia de muestreo de 1 kHz.

Dado que el catéter de registro solo proporciona sus 8 canales si tiene buen contacto con un tejido cardiaco que está en movimiento, es bastante frecuente que alguno de los canales registrados presente muy baja actividad eléctrica frente a los demás. Dichos canales fueron descartados y solo se escogieron registros que contuvieran, al menos, cuatro canales funcionales con amplitud de señal suficiente. En total, 4 de los 34 registros obtenidos fueron descartados por no cumplir el criterio anterior.

Cada uno de los 30 registros restantes analizados contuvo entre cuatro y seis canales con clara presencia de EACFs. En este trabajo se ha considerado como EACF todo aquel EGM con activaciones locales de más de dos deflexiones y/o sin línea isoeléctrica [9]. La duración de cada registro estuvo entre 5 y 15 segundos y la longitud de ciclo presentó valores de 137 \pm 12,87 ms. Inicialmente todas las OALs de cada registro multicanal fueron anotadas manualmente por electrofisiólogos expertos sin tener información previa sobre la forma de trabajar del algoritmo desarrollado.

3. Métodos

3.1. Preprocesado de registros

Un filtro paso-banda con frecuencia de corte entre 0.5 y 500 Hz se usó como primer paso de preprocesado, con el fin de reducir el ruido de alta y baja frecuencia. El segundo paso consistió en aplicar un filtrado Wavelet para reducir el ruido restante en la banda de paso y, al mismo tiempo, preservar eficientemente la morfología de los EGMs bajo proceso [14]. Este paso es importante para no falsear la morfología de las señales registradas.

Seguidamente, se aplicó la técnica de procesado de EGMs desarrollada por Botteron y Smith [15], con una frecuencia de corte inferior reducida a 20 Hz en vez de los 40 Hz habituales, una opción que admite un mayor grado de detalles morfológicos de los EACFs facilitando, así, una mejor detección de activaciones. A continuación los EGMs se normalizaron en un rango de valores de 0 a 1, para eliminar la dependencia con la amplitud de cada registro y se aplicó un último paso para realzar las OALs de reducida amplitud mediante el uso de una transformación de tangente hiperbólica.

3.2. Análisis de datos

El proceso de análisis de los EGMs comenzó con la estimación de su kurtosis en segmentos de un segundo, promediada posteriormente cada 5 segundos. Los canales correspondientes de cada EGM se clasificaron de menor a mayor grado de fraccionamiento según su kurtosis. También se estableció un umbral de amplitud para cada EGM basado en su kurtosis, asignando umbrales más bajos a canales mas fraccionados. La detección de OALs se realizó secuencialmente en cada EGM. El primero en la cola se procesó según lo descrito en la Sección § 3.1 y la detección de OALs se realizó basada en el criterio de amplitud de señal, seguido por una detección basada en LCs. La detección basada en LCs busca OALs en intervalos mas largos que la LC, disminuyendo el umbral de amplitud proporcionalmente a la duración de la LC correspondiente.

Para cada uno de los canales restantes, después del preprocesado, las OALs fueron detectadas tomando como referencia las activaciones de los canales anteriores, estableciendo una ventana temporal variable según su grado previo de repetitividad. Así, para que fuera incluida en el proceso de detección de los canales restantes, cada OAL previa tenía que estar presente en, al menos, la mitad de los canales analizados hasta entonces. Adicionalmente, la detección basada en LC se realizó también en estos canales de igual forma que en el primero, calculando los tiempos de activación como el baricentro de cada OAL [11].

Una vez que todos los EGMs de cada registro fueron analizados, se estableció un control de segundo nivel en todas las activaciones detectadas para descartar aquellas de baja



Figura 1. Pasos de los algoritmos monocanal y multicanal. Ambos coinciden al principio y luego el multicanal continúa basado en las OALs previamente detectadas. El paso final descarta OALs de baja amplitud que no se repiten mucho entre canales.

amplitud que no cumplían con los requerimientos del umbral de repetición establecido. Este paso se introdujo para evitar tendencias erróneas en detección de OALs propiciadas por los primeros canales analizados de cada registro.

3.3. Evaluación

Para la evaluación del algoritmo multicanal se desarrolló su versión monocanal secuencial, que seguía los mismos pasos de análisis aplicados al primer EGM. Cada canal se preprocesó y se realizó detección de OALs basada en umbral variable de amplitud y análisis de LCs, pero sin incorporar información de otros canales. La comparativa de pasos seguidos por la estrategia multicanal y monocanal se ilustra en la Figura 1. Las activaciones detectadas en cada una de las dos estrategias se compararon con las anotaciones manuales y se obtuvieron las matrices de confusión correspondientes. De éstas, se calcularon los valores de precisión, sensibilidad y valor predictivo positivo para ambas estrategias. Posteriormente, se realizaron los tests de Shapiro-Wilk y Levene para verificar normalidad y homocedasticidad de los falsos positivos y falsos negativos en cada canal de cada registro de ambas estrategias. Las pruebas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney se realizaron, según el resultado de los tests anteriores, para verificar la significancia estadística de la diferencia entre estos valores para cada estrategia.

4. Resultados

Las diferencias entre el método multicanal y el monocanal secuencial con iguales criterios de localización de OALs se muestran en la Figura 2. En el canal 1, la técnica monocanal secuencial detectó correctamente la primera OAL marcada, mientras que no fue detectada por el algoritmo multicanal. Sin embargo, el algoritmo monocanal marcó erróneamente tres activaciones más que fueron correctamente ignoradas por el algoritmo multicanal. En el canal 2, la única diferencia se limitó a una OAL que fue equivo-



Figura 2. EGM de dos segundos con detección de OAL en un registro de 4 canales. a) Resultado de detección del análisis multicanal indicando discrepancias con el monocanal. b) Resultado del análisis monocanal secuencial.

	Monocanal	Multicanal
Precisión (%)	$89,\!65$	$90,\!82$
Sensibilidad (%)	$96,\!47$	$93,\!89$
Valor Predictivo + (%)	92,70	$96,\!52$

 Tabla 1. Precisión, Sensibilidad y Valor Predictivo Positivo para las estrategias de detección de OALs monocanal y multicanal.

cadamente marcada por el análisis monocanal secuencial, posiblemente afectada por la activación más cercana. El canal 3 contiene tres activaciones correctamente marcadas solo por el método multicanal y una activación incorrectamente marcada por el análisis monocanal. Las tres activaciones marcadas solamente por el algoritmo monocanal en el canal 4 son falsos positivos. Por lo tanto, el método multicanal las ignoró correctamente.

El análisis multicanal ofreció mejores resultados en términos de precisión y valor predictivo positivo (ver Tabla 1). En cambio, la sensibilidad fue ligeramente mejor para el caso monocanal. La tasa de falsos positivos se expresó como número de OALs marcadas erróneamente por el método (sobredetección), siendo la de falsos negativos el número de OALs pasadas por alto (infradetección).

La sobre detección fue significativamente mayor en el caso mono canal (p<0,0001), prueba de Kruskal-Wallis) y la infra detección fue mayor sin presentar significación estadística en el caso multi canal (p=0,1676, prueba U de Mann-Whitney).

5. Discusión

El método presentado ha mostrado un mejor rendimiento respecto de su equivalente monocanal secuencial. Aunque éste último ha mostrado mayor sensibilidad, las activaciones repetitivas entre canales han sido detectadas mejor por la versión multicanal. Puesto que la sobredetección o infradetección en análisis monocanal y multicanal, respectivamente, pueden ser discutible, deben realizarse varias consideraciones. Primeramente, el *gold standard* usado como referencia en este trabajo son anotaciones manuales realizadas por expertos, que no están exentas de incertidumbre, ya que los criterios de cada persona a la vista de EGMs muy fragmentados pueden diferir.

La tasa más elevada de falsos positivos en el caso del método monocanal indica que el algoritmo es más sensible a cualquier tipo de actividad que supere los umbrales establecidos, pero no tiene en cuenta lo que sucede en canales adyacentes. Por su parte, la ligera infradetección del método multicanal indica que es mucho más selectivo en el proceso de detección, tendiendo en cuenta además lo que sucede en canales adyacentes.

La clasificación inicial de los EGMs en cada registro según su nivel de fraccionamiento y el inicio del proceso de detección por el menos fragmentado ha resultado ser una opción acertada. Así, un EGM con fraccionamiento relativamente bajo tiene activaciones más preeminentes y fáciles de encontrar, por lo que es más probable que la detección de OALs tenga mayor acierto y, por tanto, podrá servir de referencia a los canales siguientes. Además, puesto que en una segunda pasada se descartan OALs de baja amplitud y repetitividad en todos los canales, las detecciones introducidas por el primer EGM pierden sus privilegios y son tratadas de igual forma que en los demás canales.

El preprocesado en sí mismo está frecuentemente infravalorado, cuando en realidad es un paso crucial del análisis, pues cualquier alteración morfológica de los EGMs influiría en los resultados de detección. En este sentido, se ha demostrado la capacidad del filtrado Wavelet para mantener la morfología intacta, mientras el ruido se elimina eficazmente [14]. Por último, el uso de una función de tangente hiperbolica ha realzado las activaciones de amplitud baja, posibilitando la detección en los casos más complicados. Gracias a la capacidad mejorada de detección de activaciones que ha reportado este método, su uso podría ser incorporado en los sistemas de mapeo cardiaco actuales para poder generar mapas de activación más fiables.

6. Conclusiones

Este trabajo ha demostrado que la detección de OALs en EACFs es más eficiente y precisa cuando se considera un contexto multicanal, en donde se privilegian aquellas activaciones presentes en la mayoría de canales. Esto posibilita la captura más veraz de fenómenos dominantes que pueden quedar desvirtuados con técnicas monocanal. El método multicanal puede ser una herramienta superior en el guiado de AC y procedimientos de cartografía de FA.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por los proyectos de investigación competitiva DPI2017-83952-C3 de MINECO-AEI-FEDER-UE, SBPLY/17/180501/000411 de la JCCLM y AICO/2019/036 de la GVA.

Referencias

- Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, Castella M, Diener HC. 2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. European Heart Journal 2016;37(38).
- [2] Gerstenfeld EP, Duggirala S. Atrial fibrillation ablation: Indications, emerging techniques, and follow-up. Progress in Cardiovascular Diseases 2015;58(2):202–212.
- [3] Haïssaguerre M, Jaïs P, Shah DC, Takahashi A, Hocini M, Quiniou G, Garrigue S, Le Mouroux A. Spontaneous Initiation of Atrial Fibrillation by Ectopic Beats Originating in the Pulmonary Veins. The New England Journal of Medicine 1998;339(10):659–666.
- [4] Lubitz S, Ellinor P. Personalized medicine and atrial fibrillation: will it ever happen? BMC Medicine December 2012;10(1):155–155.
- [5] Jalife J, Kaur K. Atrial remodeling, fibrosis, and atrial fibrillation. Trends in Cardiovascular Med 2015;25(6):475–484.
- [6] Yoshida K, Ulfarsson M, Tada H, Chugh A, Good E, Kuhne M, Crawford T, Sarrazin JF, Chalfoun N. Complex electrograms within the coronary sinus: Time- and frequency-domain characteristics, effects of antral pulmonary vein isolation, and relationship to clinical outcome in patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation. Journal of Cardiovascular Electrophysiology 2008;19(10):1017–1023.
- [7] Bhatt HV, Fischer GW. Atrial Fibrillation: Pathophysiology and Therapeutic Options. Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia 2015;29(5).
- [8] Konings KT, Kirchhof CJ, Smeets JR, Wellens HJ, Penn OC, Allessie MA. High-density mapping of electrically induced atrial fibrillation in humans. Circulation 1994; 89(4):1665–1680.
- [9] Nademanee K, McKenzie J, Kosar E, Schwab M, Sunsaneewitayakul B, Vasavakul T, Khunnawat C, Ngarmukos T. A new approach for catheter ablation of atrial fibrillation: mapping of the electrophysiologic substrate. J Am Coll Cardiol Jun 2004;43(11):2044–53.
- [10] Nademanee K, Lockwood E, Oketani N, Gidney B. Catheter ablation of atrial fibrillation guided by complex fractionated atrial electrogram mapping of atrial fibrillation substrate. J Cardiol Jan 2010;55(1):1–12.
- [11] Faes L, Nollo G, Antolini R, Gaita F, Ravelli F. A method for quantifying atrial fibrillation organization based on wave-morphology similarity. IEEE Transactions on Biomedical Engineering 2002;49(12 I):1504–1513.
- [12] Dalvi R, Suszko A, Chauhan VS. Graph search based detection of periodic activations in complex periodic signals: Application in atrial fibrillation electrograms. Canadian Conference on Electrical and Computer Engineering 2015; 2015-June(June):376–381.
- [13] Ng J, Sehgal V, Ng JK, Gordon D, Goldberger JJ. Iterative method to detect atrial activations and measure cycle length from electrograms during atrial fibrillation. IEEE Transactions on Biomedical Engineering 2014;61(2):273–278.
- [14] Martínez-Iniesta M, Ródenas J, Alcaraz R, Rieta JJ. Waveform integrity in atrial fibrillation: The forgotten issue of cardiac electrophysiology. Ann Biomed Eng 2017;1–18.
- [15] Botteron GW, Smith JM. A technique for measurement of the extent of spatial organization of atrial activation during atrial fibrillation in the intact human heart. IEEE Transactions on Biomedical Engineering 1995;42(6):579–586.

Modelado computacional de la conducción de volumen en el EEG. Caracterización del deterioro cognitivo leve y su progresión a la enfermedad de Alzheimer

S. J. Ruiz-Gómez¹, C. Gómez¹, J. Poza¹, A. Maturana-Candelas¹, M. A. Tola-Arribas², M. Cano³, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, saul.ruiz@gib.tel.uva.es.

² Servicio de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España.

³ Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España.

Resumen

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la conducción de volumen en varias medidas de conectividad funcional: la coherencia sin retardo de fase (lagCOH), la correlación de la envolvente de la amplitud (AEC), y el índice de retardo de fase (PLI). Estas medidas se han aplicado a: (i) un conjunto de señales sintéticas generadas con un modelo de 19 osciladores acoplados; v (ii) un conjunto de registros reales de EEG pertenecientes a 19 pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) que han progresado a demencia por enfermedad de Alzheimer (DCL_P), 23 pacientes con DCL estable (DCLE) y 45 sujetos de control. Nuestros resultados sobre las señales sintéticas muestran que el PLI es la medida menos afectada por los efectos de la conducción de volumen. Por otro lado, los resultados sobre los registros EEG reales muestran un aumento estadísticamente significativo del PLI en la banda θ para los dos grupos de DCL, siendo más destacado en los DCLP. Nuestros resultados sugieren que la estimación de la conectividad mediante el PLI podría reducir el sesgo introducido por la influencia espuria de la conducción de volumen, lo que podría aumentar el conocimiento sobre la dinámica neuronal subyacente en la progresión del DCL hacia la demencia por enfermedad de Alzheimer.

1. Introducción

El cerebro humano está formado por billones de neuronas interconectadas formando una red compleja que se encuentra en continuo cambio, adaptándose a los distintos estímulos a lo largo de la vida. Sin embargo, algunos procesos fisiopatológicos pueden alterar el envejecimiento cerebral normal y causar demencia. La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia, con un 60-80% de los casos. Los síntomas iniciales de la EA están comúnmente precedidos por una etapa conocida como deterioro cognitivo leve (DCL) debido a EA [1]. Los sujetos con DCL muestran un deterioro de la memoria mayor de lo esperable para su edad, pero no cumplen los criterios para el diagnóstico de demencia. Dentro de los sujetos con DCL se pueden distinguir dos subgrupos: los pacientes que se mantienen estables a lo largo del tiempo (DCL_E) y los que progresan hacia la EA (DCL_P).

Durante las últimas décadas, distintas técnicas han sido utilizadas para estudiar la dinámica neuronal, como la electroencefalografía (EEG). El EEG registra los campos eléctricos generados por grupos neuronales sincronizados mediante electrodos situados en el cuero cabelludo. Sin embargo, estas señales sufren atenuación, expansión y contaminación por ruido cuando atraviesan las distintas capas de la cabeza. Estos efectos pueden dar lugar a correlaciones espurias entre las series temporales registradas por electrodos cercanos, ya que es muy probable que capten actividad eléctrica de las mismas fuentes cerebrales [3]. Esto se conoce como "problema de conducción de volumen" [3].

Con objetivo de analizar y caracterizar la conducción de volumen se han empleado distintos modelos de señales sintéticas. Stam et al. [3] simularon la actividad cerebral mediante un modelo de osciladores globalmente acoplados de Kuramoto, centrados en una única frecuencia de 10 Hz. Para modelar la conducción de volumen, propusieron tres escenarios diferentes aumentando el número de fuentes comunes y permitieron que más de un oscilador contribuyese a cada canal de EEG simulado. Esta metodología permitió evaluar el comportamiento de varias medidas en condiciones extremas de conducción de volumen de una forma sencilla [3]. Este trabajo pretende mejorar esta metodología, simulando la actividad cerebral con múltiples osciladores centrados en las diferentes frecuencias dentro de todo el espectro EEG disponible. Además, se propone un modelo realista de propagación de las señales eléctricas desde las fuentes a los electrodos.

Los objetivos de este trabajo son: (i) analizar cómo afecta la conducción de volumen a distintas medidas de conectividad: la coherencia sin retardo de fase (*lagged Coherence*, *lagCOH*), la correlación de la envolvente de la amplitud (*Amplitude Envelope Correlation*, *AEC*), y el índice de retardo de fase (*Phase Lag Index*, *PLI*); y (ii) comprobar si estas medidas son capaces de caracterizar las alteraciones cerebrales en pacientes con DCL, tanto aquellos que tras unos años han desarrollado EA como los que han permanecido estables.

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad EEG basal de 87 sujetos: 19 pacientes con DCL que han progresado a EA (DCL_P), 23 pacientes con DCL estable (DCL_E), y 45 sujetos de control de edad avanzada. La Tabla 1 muestra los datos sociodemográficos y clínicos para cada grupo. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en edad (*p*-valor > 0.05, test de Kruskal-Wallis), ni sexo (*p*-valor > 0.05, test Chi-cuadrado). Además, tampoco se

199

	Control	DCLE	DCLP
N^{a}	45	23	19
Edad ^b	75.6 [73.8 78.6]	78.2 [68.5 79.8]	77.2 [72.8 79.7]
Sexo ^c	14:31	10:13	5:14
MMSE ^d	29 [28 30]	27 [26 28]	27 [26 28]

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].

encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de *Mini-Mental State Examination* (MMSE) que permitieran diferenciar los dos grupos de pacientes con DCL (p-valor > 0.05, test U de Mann-Whitney).

Todos los participantes y los cuidadores de los pacientes fueron informados sobre la investigación y el protocolo del estudio y dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid, España) aprobó el estudio de acuerdo al Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

2.2. Registro EEG

El registro de las señales EEG se realizó con un equipo de 19 canales (XLTEK[®], Natus Medical). Los sujetos se encontraban relajados, despiertos y con los ojos cerrados durante la adquisición del EEG. El equipo registró las señales EEG con una frecuencia de muestreo de 200 Hz para los siguientes 19 electrodos colocados siguiendo el Sistema Internacional 10-20: Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1 y O2.

Para minimizar la presencia de artefactos oculográficos, cardiográficos y miográficos se llevó a cabo un análisis de componentes independientes (ICA). Después, los registros fueron procesados digitalmente con un filtro FIR (*Finite Impulse Response*) con una ventana de Hamming entre 1 y 70 Hz y con un filtro de ranura para eliminar la interferencia de red (50 Hz). Por último, se seleccionaron épocas de 5 segundos libres de artefactos mediante inspección visual.

3. Métodos

3.1. Modelo real de la cabeza

En este estudio, se ha utilizado un modelo computacional basado en superficies, construido a partir de la base de datos Visible Human Project [4]. En nuestro caso concreto, se identificaron el cerebro, el líquido cefalorraquídeo (CSF), el cuero cabelludo y la piel. Cada una de estas capas presenta una atenuación frente al paso de ondas electromagnéticas, definidas por el parámetro a. Los valores de α para las distintas capas se asignaron a partir de los datos extraídos de la base de datos de Hasgal (www.itis.ethz.ch/database): 0.002726, = $\alpha_{
m cerebro}$ $\alpha_{\rm CSF} = 0.016624,$ = 0.001665, y $lpha_{ ext{cuero}_{ ext{cabelludo}}}$ $\alpha_{\text{piel}} = 0.000165$. Además, se añadieron los 19 electrodos EEG simulados de acuerdo al Sistema Internacional 10-20. El resultado final del modelo se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Modelo de la cabeza a partir de la base de datos Visible Human Project [4].

3.2. Modelo de Kuramoto

El modelo de Kuramoto describe las dinámicas de fase de una red de *N* osciladores acoplados mediante la siguiente ecuación diferencial [5]:

$$\frac{d\theta_i}{dt} = \omega_i + \frac{K}{N} \sum_{j=1}^N \sin(\theta_j - \theta_j)$$
(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 la influencia del resto de osciladores [5].

Las frecuencias naturales de cada oscilador fueron tomadas aleatoriamente de una distribución de Lorentz centrada en ω_i y de un ancho γ [5].

Cuando el modelo se integra numéricamente variando el acoplamiento global *K*, aparecen dos escenarios diferentes: (i) para simulaciones con *K* menor que cierto umbral K_{crit} , los osciladores actúan como si no estuvieran sincronizados; (ii) cuando *K* es mayor que K_{crit} aparece un solo grupo de osciladores sincronizados [3]. Como las frecuencias naturales se toman de una distribución de Lorentz, este valor crítico está determinado por $K_{crit} = 2\gamma$.

Para llevar a cabo la simulación de los modelos se ha utilizado un sistema con 200 osciladores. Para cada oscilador, la ecuación (1) fue numéricamente integrada en intervalos de tiempo de 5 ms (correspondientes a una frecuencia de muestro de 200 Hz). En todas las simulaciones, los primeros 10 segundos fueron descartados para eliminar estados transitorios [3]. El estado del oscilador *i* en el instante de tiempo *t* es:

$$O_i(t) = A_{\omega 0} \sin(\theta_i) \tag{2}$$

donde $A_{\omega 0}$ es una amplitud constante para todos los osciladores obtenidos con la misma frecuencia central ω_0 . El resultado de estas series temporales se ha utilizado para crear las señales EEG sintéticas.

Se simularon un total de 200 fuentes cerebrales situadas de forma aleatoria dentro del cerebro, cuya frecuencia central de oscilación se obtuvo evaluando el rango $f_0 \in [1.5, 69.5]$

Hz, con $\omega_0 = 2\pi f$, como se ha hecho en nuestro estudio previo [6]. Las frecuencias específicas de cada oscilador fueron determinadas por una distribución de Lorentz centrada en ω_0 y de un ancho $\gamma = 1$ [6]. Por último, se simularon dos escenarios diferentes: (i) un caso ideal sin conducción de volumen en el que cada fuente únicamente se registra en el electrodo más cercano; (ii) un segundo escenario que representa el caso real con conducción de volumen, donde cada fuente es registrada por todos los electrodos. Para cada valor de acoplamiento global *K*, se simularon 300 épocas de 5 segundos, dando lugar a 300 series temporales de 19 canales simulados y 1000 muestras, sobre las cuales se realizó el análisis de conectividad.

3.3. Medidas de conectividad

La conectividad funcional entre pares de electrodos fue estimada utilizando tres medidas de acoplamiento complementarias desde el punto de vista del proceso de inferencia: *lagCOH*, *AEC* y *PLI*.

A partir de la definición de coherencia, se ha definido la *lagCOH*, que mide la conectividad sin estar afectada por conducción de volumen [7]. Esta medida ha sido utilizada previamente en análisis a nivel de fuente y su definición se puede encontrar en [7].

La *AEC* estima la correlación entre dos señales basándose en su amplitud. Primero, las series temporales se ortogonalizaron para cada época con el objetivo de minimizar el efecto de la conducción de volumen [8]. Posteriormente, el acoplamiento se calcula como la correlación de Pearson entre las envolventes de potencia, obtenidas mediante la transformada Hilbert y transformadas logarítmicamente [8].

El *PLI* es una medida que cuantifica la asimetría de las distribuciones de diferencia de fase de dos señales [3]. El *PLI* no es sensible a las señales con retardo de fase cero. Valores más altos de *PLI* indican un acoplamiento de fase mayor [3].

4. Resultados

4.1. Señales sintéticas: 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) para los dos escenarios pueden verse en la Figura 2. En ambos escenarios los valores de *lagCOH* se mantuvieron constantes, pero mayores que 0.15 para $K < K_{crit}$ (cuando el valor esperado debería de ser 0). Posteriormente, crecieron a medida que aumentaba K, como se esperaba teóricamente. En el caso de la *AEC*, se mantuvo estable en torno a 0.1 para $K < K_{crit}$ en ambos escenarios. Para $K > K_{crit}$, los valores de *AEC* empezaron a aumentar, pero sin llegar a valores superiores a 0.25. Por último, los valores de *PLI* se mantuvieron muy bajos para $K < K_{crit}$ en ambos escenarios, y aumentaron para valores de K a partir de K_{crit} .

Cuantitativamente, los valores del test de Kolmogorov-Smirnov (test que cuantifica la diferencia entre dos curvas mediante estadístico *ks*; cuanto menor sea el valor de ks, menores serán las diferencias entre las curvas) revelaron que el *PLI* era la medida menos afectada por los efectos de la conducción de volumen, ya que obtuvo un valor de *ks* menor en comparación con la *lagCOH* y la *AEC*, a pesar de que ninguna de las medidas analizadas es inmune a los mismos. Por esta razón, el análisis de conectividad con los registros EEG se realizó únicamente utilizando *PLI*.

4.2. Señales reales: registros EEG

Dado que los resultados obtenidos mediante *PLI* son dependientes de la frecuencia, se promediaron para las bandas de frecuencia clásicas (δ , 1-4 Hz; θ , 4-8 Hz; α , 8-13 Hz; β_1 , 13-19 Hz; β_2 , 19-30 Hz; y γ , 30-70 Hz). La Figura 3 muestra los valores de *PLI* promedio para cada uno de los grupos analizados y los *p*-valores para las distintas comparaciones realizadas en la banda θ , ya que es la banda de frecuencia en la que se obtuvieron las principales diferencias estadísticamente significativas.

Nuestros resultados muestran que los pacientes con DCL_E presentan un aumento de la conectividad frente a los controles, especialmente en las conexiones del hemisferio izquierdo. El incremento de la conectividad es mucho mayor en la comparativa entre los controles y los pacientes con DCL_P , y está más extendida por todo el cerebro.

5. Discusión y conclusión

En este trabajo se ha estudiado el comportamiento de tres medidas de conectividad funcional (*lagCOH*, *AEC* y *PLI*) frente a la conducción de volumen mediante un modelo



Figura 2. Valores de lagCOH, AEC y PLI en función de la intensidad global de acoplamiento K para el escenario ideal sin conducción de volumen (rojo) y para el caso real con conducción de volumen (azul). Las líneas sólidas indican los valores promedio mientras que las áreas sombreadas indican la desviación estándar de las 300 épocas simuladas. Los valores del test de Kolmogorov-Smirnov (estadístico ks) se especifican para cada medida.



Figura 3. Valores de PLI promedio para cada grupo (C: controles; DCL_E: DCL estable; y DCL_P: DCL que han progresado a EA), en la banda θ (fila superior), y diferencias estadísticamente significativas entre grupos (p-valores<0.05) (fila inferior). Los tonos rojos indican aumentos significativos de la conectividad en los pacientes en comparación con los controles,

computacional de 200 osciladores acoplados. Estudios previos han propuesto diferentes medidas de conectividad para minimizar el problema de la conducción de volumen. Sin embargo, en muy pocos casos se ha evaluado su comportamiento utilizando señales sintéticas [3,6].

Por otro lado, también se ha analizado una base de datos de registros EEG reales pertenecientes a sujetos de control y pacientes con DCL, divididos en dos subgrupos de elevado interés clínico. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en estudios previos [3,6,7], en los cuales se encontraron aumentos estadísticamente significativos de *PLI* v *lagCOH* en la banda θ para pacientes con DCL, v disminuciones en la banda a. Sin embargo, apenas existen estudios que identifiquen varios subgrupos de DCL en función de su progresión a la EA. Únicamente tenemos conocimiento de un estudio previo que ha utilizado el EEG y medidas de conectividad para caracterizar las dinámicas cerebrales de pacientes con DCL_E y DCL_P [9]. Sus resultados son similares a los obtenidos en nuestro estudio, ya que reflejan aumentos en los valores de coherencia en las bandas $\delta \mathbf{v} \boldsymbol{\theta}$ en los pacientes que progresan, en comparación con los que se mantienen estables [9]. Desde el punto de vista clínico, estos patrones anormales observados pueden estar debidos a la pérdida de acetilcolina, ya que podría explicar tanto el aumento estadísticamente significativo de las bandas de baja frecuencia como la disminución de la conectividad en las bandas de alta frecuencia [10].

Es importante mencionar varias limitaciones de este estudio. En primer lugar, en este estudio hemos simulado una propagación isotrópica desde las fuentes a los electrodos. Sin embargo, algunas capas cerebrales, como la materia blanca y el cráneo, presentan unas características de conducción anisotrópicas. En segundo lugar, se podría estudiar el efecto de la conducción de volumen en otras medidas de conectividad funcional. Por último, a partir de las redes creadas con el *PLI*, se podría llevar a cabo un análisis basado en teoría de grafos para caracterizar estas redes funcionales en las distintas etapas del DCL y la EA.

En resumen, este estudio nos ha permitido demostrar que ninguna de las medidas analizadas es inmune a los efectos de la conducción de volumen, si bien el *PLI* es la menos afectada. Además, el *PLI* ha demostrado su utilidad para reflejar los cambios neuronales causados durante el DCL, tanto en pacientes que se mantienen estables como en pacientes que progresan hacia la EA.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto PGC2018-098214-A-I00 del 'Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades' y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), y 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 FEDER. S. J. Ruiz-Gómez disfruta de un contrato predoctoral cofinanciado por la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo.

Referencias

- [1] Alzheimer's Association 2017. Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimers Dement*, 13 (325–373), 2017.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] U.S. National Library of Medicine The Visible Human Project. URL https://www.nlm.nih.gov/research/visible/ visible_human.html
- [5] 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.
- [6] Ruiz-Gómez S J et al. Analysis of Volume Conduction Effects on Different Functional Connectivity Metrics: Application to Alzheimer's Disease EEG Signals. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 1 (6434–6437), Berlin, 2019.
- [7] Pascual-Marqui R. Instantaneous and lagged measurements of linear and nonlinear dependence between groups of multivariate time series: frequency decomposition. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, 2 (3768–3784), 2011.
- [8] Brookes MJ et al. Measuring temporal, spectral and spatial changes in electrophysiological brain network connectivity. *Neuroimage*, 91 (282–299), 2014.
- [9] Musaeus CS et al. Altered Low-Frequency EEG Connectivity in Mild Cognitive Impairment as a Sign of Clinical Progression J Alzheimer's Dis, 68 (947-960), 2019.
- [10] Francis PT *et al.* The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 66 (137–47), 1999.

Computational simulations of the effects of the V17M missense mutation on atrial electrical activity

R. Belletti¹, L. Martínez Mateu¹, L. Romero Pérez¹, J. Saiz

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, España

jsaiz@ci2b.upv.es

Abstract

Atrial fibrillation is a cardiac arrhythmia responsible for disorganized electrical activity of the upper chambers of the heart. Recently genetic mutations have been associated to episodes of atrial fibrillation in asymptomatic patients, a condition called Lone AF. Indeed, genetic defects in ion channel protein structures can alter the flowing of the current through the pore.

The aim of this work is to model and simulate the gain of function missense mutation V17M affecting the accessory subunit KCNE3 of the rapid delayed rectifier potassium channel, Kv11.1, found in a 46-years-old man affected by Lone AF. To accomplish this, the ventricular I_{Kr} Markov model proposed by Martin Fink and colleagues has been refitted to reproduce the behavior of the atrial I_{Kr} using an optimization procedure. Then, it was introduced into the atrial cellular model developed by Courtemanche Ramirez Nattel (CRN). Additionally, this model has been adjusted to fit experiments in literature in order to accurately reproduce the effects of the V17M mutation.

The resulting wild-type I_{Kr} formulation mimics the CRN I_{Kr} time course at 0.5, 1 and 2 Hz, the activation time constants and the steady-state activation and inactivation curves. In addition, the V17M mutation formulation reproduces the experimentally reported electrophysiological alterations, which are approximately 3-fold increment of the current at high voltages and an almost 2-fold prolongation of the deactivation time constant. Simulation of the V17M mutation at the cellular level showed a 300% increase of the I_{Kr} peak, which shortened the action potential duration in 118.30 ms.

1. Introduction

Affecting 1.5 - 2% of the general population, atrial fibrillation (AF) is one of the most diffused cardiac arrhythmias responsible for rapid and uncoordinated electrical activation of the atria. The irregular excitation pattern manifests in patients with shortness of breath, dizziness, palpitation, syncope, chest pain and fatigue, leading to increased risk of stroke and life quality decay [1]. Although usually AF comes secondary to a series of pathological conditions and risk factors (as advanced age, ischemic heart disease, hypertension, hyperthyroidism, obesity ...), sometimes it manifests in asymptomatic subjects, in absence of co-occurring diseased [2]. This case is addressed to as Lone AF, a condition demonstrated to have an inheritability component. The presence of genetic mutations altering normal functioning of cardiac myocyte ion channels can produce mechanisms favoring the arrhythmic behavior.

Rapidly repolarizing potassium current, together with the slowly activated potassium current, almost represent the main components taking part into the repolarizing phase in the action potential (AP). Thus, a genetic mutation affecting one of those will lead to a shortening or lengthening of AP duration and effective refractory period, thus, being able to promote a fibrillatory event [3][4].

One of the latest genetic defects found to be a potential risk factor for AF has been identified and experimentally studied in *Xenopus Laevis* oocyte by Lundby and colleagues. The missense mutation V17M, carried by a 46-years old male patient with lone AF, affects the KCNE3 gene encoding for a Kv11.1 channel accessory subunit and induces a gain-of-function (GOF) behavior of Kv11.1 – KCNE3 channel complex. Kv11.1 is the α -subunit of the potassium channel, underlying the rapid component of delayed rectifier potassium current, IKr. Mutant channels result in conducting larger currents than wild-type channels and in decelerating the deactivation process, [5].

In this work, modeling and simulation of V17M mutation has been performed in order to study its effects on the atrial action potential and its potential risk to become a substrate for maintenance of AF. Since so far I_{Kr} Markov models in literature have been developed based on ventricular experimental data, a preliminary phase in this work will focus on tuning parameters of the Fink and colleagues I_{Kr} Markov model in order to reproduce atria cardiomyocytes I_{Kr} behavior. Then, it will be incorporated to the Courtemanche-Ramirez-Nattel (CRN) model [6][7], and the resulting model will be the starting point to reproduce the missense GOF mutation, V17M, affecting the α subunit of the potassium channel when co-expressed with the KCNE3 accessory subunit in atrial myocytes.

2. Methods

2.1. IKr ionic channel model

 I_{Kr} has been modeled using a modified version of the Markov formulation from Fink and colleagues, which has the following scheme:

$$C_1 \underset{p_2 \cdot \lambda_2}{\overset{p_1 \cdot \lambda_1}{\underset{p_2 \cdot \lambda_2}{\longrightarrow}}} C_2 \underset{p_4 \cdot \lambda_4}{\overset{p_3 \cdot \lambda_3}{\underset{p_4 \cdot \lambda_4}{\longrightarrow}}} C_3 \underset{p_6 \cdot \lambda_6}{\overset{p_5 \cdot \lambda_5}{\underset{p_6 \cdot \lambda_6}{\longrightarrow}}} O \underset{p_8 \cdot \lambda_8}{\overset{p_7 \cdot \lambda_7}{\underset{p_8 \cdot \lambda_8}{\longrightarrow}}} I$$

Figure 1. Schematic representation of the I_{Kr} Markov model by Fink et al. 2008, with transition rates, λ , and estimated parameters, p

The transition rates, λ_1 - λ_8 , have been formulated based on thermodynamic principles as it follows:

$$\lambda = \frac{k_B T}{h} e^{\left(\frac{\Delta S_\lambda}{R} - \frac{\Delta H_\lambda}{RT} + \frac{Z_\lambda F V}{RT}\right)}.$$
 (1)

Each transition velocity between one state and the adjacent one is characterized by different values of the parameters in the equation above, as in the original paper [6].

2.2. Optimization procedure

The estimation of the parameter vector p has been accomplished using a derivative-free method, the Nelder-Mead simplex algorithm [8]. This allowed the minimization of a cost function, defined as a combination of the sum, over time t_i , of weighted squared difference between target and simulation data generated by the parameter vector p, computed for each experiment x.

$$\min \sum_{x}^{6} w_{x} \cdot \sum_{t_{i}}^{n} (Simulated(t_{i}, \boldsymbol{p}) - Reference(t_{i}))^{2}. (2)$$

The *p* vector is made up of nine parameters, among which eight of them multiply each transition rate λ , and one multiplies the channel conductance, g_{Kr} .

Wild-Type

As already mentioned, since current IKr Markov models are based on ventricular myocyte data, the preliminary phase of this work consisted of a reparameterization procedure able to find a set of parameters to reproduce healthy atrial IKr current behavior. Previously published experimental data from Wang and colleagues [9] serves as a target in the adjustment process. Peak values of tail currents and time constants have been digitalized from the paper, while inactivation data has been computed from the Hodgkin-Huxley formulation of the rapid delayed rectifier potassium current in the CRN model. The myocyte time courses of IKr at different basic cycle lengths (BCLs), namely, 500 ms, 1000 ms and 2000 ms, have been reproduced in-silico as output to 20 pulses 0-D myocyte simulations. Simulated time constant, activation and inactivation kinetics values were obtained as outputs from different voltage-clamp protocols [9][10]. Peak of tail current values normalized to their maximum have been fitted to a Boltzmann function.

Mutation V17M

Experimental results from a study conducted by Lundby and colleagues [5] have been considered as reference for adjusting the parameters describing the V17M missense mutation. Relative changes between wild-type and mutant in both I/V relationship and deactivation time constant have been considered in order to account for the mutation effects.

2.3. Human atrial myocyte model

Myocyte simulations have been carried out using a modified version of the CRN human atrial cell model as the original version includes data from human atrial cells and replicates human atrial APs and APD rate dependence [7]. In this new version, the rapid delayed rectifier current equation has been replaced by our I_{Kr} Markov model, as previously explained. Action potential simulations have been run at 1 Hz and our results correspond to the 20th pulse.

3. Results and Discussion

The optimization procedure leads to the representation of the atrial myocytes behavior in control and altered conditions, through a combination of parameters multiplying the existent transition rates and conductance values. In *Table 1*, the factors multiplied to transition rates and conductance values describing the atrial $I_{\rm Kr}$ Markov formulation (second column) are compared to the one reproducing the mutation (third column), resulting from the optimization approach.

Parameters	Atrial WT	Kv11.1/KCNE3- V17M
<i>p</i> 1	945.35	0.0015
<i>p</i> ₂	1922.95	0.023
<i>p</i> ₃	0.51	17.24
<i>p</i> ⁴	10.96	0.79
<i>p</i> ₅	40.22	0.091
<i>p</i> 6	7.50	0.715
p_7	101.55	0.086
p_8	425.91	0.017
<i>p</i> 9	1.024	20.46

Table 1. Multiplicative factors to transition rates and I_{Kr} conductance values in atrial WT and mutated cases

3.1. Wild-Type

Figure 2 A, B and *C* depict the I_{Kr} current time courses at different basic cycle lengths, namely 500 ms, 1000 ms and 2000 ms, simulated using the adapted parameters, as shown in the second column of *Table 1*.





Figure 2. Comparison between the fitted model and the reference data

Figure 2 D, E and *F* show that the model fits the time constants of activation and the steady-state activation and inactivation curves, respectively. This figure shows that our atrial I_{Kr} Markovian formulation quite accurately reproduces the dynamics of the atrial rapid delayed rectified potassium current in control conditions. Additionally, the fitting of the tail current peak to a Boltzmann function (*Figure 3*) provides further demonstration that the activation kinetics properties have been maintained. The half-maximal activation potential $V_{1/2}$ and the slope factor *k* of the 'Atrial WT' model are -18.00 ± 0.30 mV and 6.28 ± 0.20 mV, respectively, while the Courtemanche values of $V_{1/2}$ and *k* are -14.0 ± 3.3 mV and 6.5 ± 1.5 mV, respectively.



Figure 3. Activation Kinetics of the atrial WT model

3.2. Mutation V17M

The mutation affecting the accessory subunit of I_{Kr} current has been modeled accounting for relative changes between wild-type and mutated measurements reported in [5]. *Figure 4* illustrates the simulated current voltage dependence together with the target values. The deactivation time constant in presence of the mutation has been fitted to almost the double value of the deactivation time constant in wild-type conditions, as recorded in the experiments.



Figure 4. Adjustment of the Kv11.1/KCNE3-V17M

3.3. Human atrial model - 0D simulation

The set of parameters shown in *Table 1* are applied to the model to run single atrial myocyte simulations, with the aim to assess the precision of the model in representing I_{Kr} wild-type behavior and to study the effect of the mutation affecting the channel.

Wild-Type

Figure 5 shows the action potential in the fitted model overlap with the original Courtemanche model AP. The action potential duration (APD₉₀) of the 'Atrial WT' model is 310.04 ms, proving a good matching with the original Courtemanche APD90 (300.86 ms). Moreover, the time courses of the membrane voltage resulting from the original and from our new version are very similar.



Figure 5. Single cell AP comparison between 'Atrial WT' model and original Courtemanche formulation

Figure 6 shows that the APD restitution curves of both models are very similar.



Figure 6. Restitution curves of the action potential duration

Mutation V17M

'Kv11.1/KCNE3-V17M' set of parameters in the third column of *Table 1* allows a precise description of the gainof-function effects of the V17M mutation carriers in atrial cell simulations. The shortening of the APD₉₀ in the mutated model can be appreciated in *Figure 7*.



Figure 7. Simulated action potential time course of the mutated and WT atrial cells

The APD shortening in the simulated mutated cell model is 118.30 ms, which results from the higher values of the rapid delayed rectifier current, whose peak is about 79.66 pA, while in control conditions is about 26.25 pA, as shown in *Figure 8*.



Figure 8. Rapid delayed rectifier potassium current in control and mutated conditions

4. Conclusions

The WT and Kv11.1/KCNE3-V17M models have been proposed in order to simulate both healthy and disease rapid delayed rectifier potassium current in atrial myocytes. These models, formulated using a Markov model based on ventricle's Fink and colleagues' equations, lead to a precise reproduction of dynamics of the rapid potassium channel. Our simulation results show, in one hand, that the parameter estimation obtained with the optimization procedure provide a good approximation of the reference atrial model proposed by Courtemanche and colleagues. On the other hand, the Kv11.1/KCNE3-V17M gain of function missense mutation has been formulated basing on Lundby and colleagues' experimental recordings. The simulated behavior of the mutated current shows that the genetic defect is responsible for a significant shortening of the action potential duration because of a 300% higher peak of I_{Kr} with respect to the control case. The fitted V17M experimental data demonstrate that a mutation in the β -subunit of the pore forming I_{Kr} channel can actually become a potential risk factor in generating a substrate for AF initiation. Our results show that the mutation in fact is provoking an APD₉₀ shortening of about 38% the original value, which could lead the system to be more prone to re-entrant activity in 2D and 3D simulations. The introduction of the V17M missense mutation in the whole atria and torso models would provide the characterization of the pathological condition at organ level, also allowing the assessment of the mutation effects on electrocardiograms, which can help doctors at diagnostic stage.

Acknowledgment

I acknowledge this work to the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No.766082 and to Generalitat Valenciana, Prometeo programme 2016/088.

References

- [1] E. Society *et al.*, "Guidelines for the management of atrial fibrillation The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association," 2010.
- [2] A. D. Krahn, J. Manfreda, R. B. Tate, F. A. L. Mathewson, and T. E. Cuddy, "The Natural History of Atria1 Fibrillation: Incidence, Risk Factors, and Prognosis in the Manitoba Follow-Up Study," vol. 98, no. May, 1995.
- [3] J. Feghaly, P. Zakka, B. London, C. A. Macrae, and M. M. Refaat, "Genetics of Atrial Fibrillation," J. Am. Heart Assoc., pp. 1–15, 2018.
- [4] L. Andreasen, J. B. Nielsen, and M. S. Olesen, "Genetic Aspects of Lone Atrial Fibrillation: What Do We Know?," vol. 004387, pp. 667–678, 2015.
- [5] A. Lundby, L. S. Ravn, J. H. Svendsen, S. Haunsø, S. Olesen, and N. Schmitt, "KCNE3 Mutation V17M Identified in a Patient with Lone Atrial Fibrillation," *Cell. Physiol. Biochem.*, 2007.
- [6] M. Fink, D. Noble, L. Virag, A. Varro, and W. R. Giles, "Contributions of HERG K current to repolarization of the human ventricular action potential," vol. 96, pp. 357–376, 2008.
- [7] M. Courtemanche, R. J. Ramirez, and S. Nattel, "Ionic mechanisms underlying human atrial action potential properties: insights from a mathematical model," *Am. J. Physiol. -Heart Circ. Physiol.*, vol. 275, pp. 301–321, 1998.
- [8] B. J. A. Nelder and R. Mead, "A simplex method for function minimization," 1964.
- [9] Z. Wang, B. Fermini, and S. Nattel, "Rapid and slow components of delayed rectifier current in human atrial myocytes," 1994.
- [10] G. Berecki *et al.*, "HERG Channel (Dys) function Revealed by Dynamic Action Potential Clamp Technique," vol. 88, no. January, pp. 566–578, 2005.

Efectos sobre la función de coherencia óptica de los tejidos biológicos empleando funciones de Green para haces MGS

J.L. Ganoza-Quintana, J.L. Arce-Diego, F. Fanjul-Vélez

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, <u>fanjulf@unican.es</u>, <u>arcedj@unican.es</u>

Resumen

Como los tejidos biológicos son medios turbios, con la consiguiente gran influencia de esparcimiento sobre la propagación de la radiación óptica, es necesario analizar adecuadamente su influencia sobre los parámetros de propagación óptica, como la coherencia. La influencia de una distribución particular de esparcidores puede ser analizada por las funciones de Green. En este trabajo se introduce un parámetro de anisotropía geométrica en el espectro de potencia del tejido biológico y se estudia sus efectos sobre las estadísticas de los haces ópticos que se propagan por el mismo. Además de los efectos de otros parámetros, como la variación del índice de refracción, la pendiente del espectro de potencia y las escalas internas / externas del tejido. Se discute el comportamiento de los haces tipo modelo Gaussiano Schell. Estos resultados basados en la integral extendida de Huygens-Fresnel indican que la densidad espectral del haz comienza a adquirir un perfil elíptico.

1. Introducción

Las técnicas ópticas biomédicas de tratamiento, caracterización y cirugía dependen de la propagación de la luz en los tejidos biológicos [1]. La precisión de la propagación de la luz y las estimaciones a priori son particularmente significativas en las técnicas de diagnóstico. Como el tejido biológico es un medio turbio, con gran influencia del esparcimiento, es necesario analizar adecuadamente su influencia sobre parámetros de propagación óptica, como la coherencia. La influencia de una distribución de esparcidores puede analizarse mediante las funciones de Green [2]. En este trabajo dichas funciones se emplean para el estudio analítico de la complejidad de la propagación de la luz como radiación electromagnética en esos medios turbios que son los tejidos biológicos. En primer lugar, se define el marco teórico; a continuación, se estudia la propagación de haces Gaussiano Schell por tejidos biológicos anisotrópicos y finalmente se presentan los resultados y las conclusiones.

2. Modelo Teórico

Sea una onda escalar $U^{(i)}(\vec{r};\omega)$ viajando en el espacio libre incide sobre un objeto, confinado a un volumen V, de índice de refracción $n(\vec{r};\omega)$. Se determina la forma del campo esparcido $U^{(s)}(\vec{r};\omega)$ y se define formalmente el campo total en la región del objeto de esparcimiento como $U^{(t)}(\vec{r};\omega) = U^{(i)}(\vec{r};\omega) + U^{(s)}(\vec{r};\omega)$. El campo total satisface la ecuación de Helmholtz con un índice de refracción no uniforme y, por lo tanto, un número de onda no uniforme k [3],

$$[\nabla^2 + k^2 n^2(\mathbf{r}; \omega)] U^{(\ell)}(\mathbf{r}; \omega) = 0.$$
(1)
ces,

$$U^{(l)}(\vec{r};\omega) = U^{(l)}(\vec{r};\omega) + \int_{D} F\left(\vec{r}';\omega\right) U^{(i)}\left(\vec{r}';\omega\right) G\left(\vec{r}-\vec{r}';\omega\right) d^{3}r'$$
(2)

Donde la función $F(\vec{r}; \omega)$ se denomina potencial de esparcimiento del medio y $G(\vec{r} - \vec{r'}; \omega)$ es la función de Green de la ecuación tridimensional de Helmholtz.

El modelo Gaussiano Schell (MGS) está basado en el siguiente modelo para la función de densidad espectral cruzada en 2 vectores espaciales $\vec{\rho'_1}$ y $\vec{\rho'_2}$, dada por,

$$W^{(G)}\left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}'}}, \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}'}}; \omega\right) = A_{0}^{2}(\omega)e^{-\frac{\rho_{1}^{\prime 2} + \rho_{2}^{\prime 2}}{4\sigma^{2}(\omega)}}e^{-\frac{\left(\overrightarrow{\rho_{1}'} - \overrightarrow{\rho_{2}'}\right)^{2}}{2\delta^{2}(\omega)}}, \quad (3)$$

Donde superíndice (G) representa el modelo Gaussiano Schell, A_0^2 es el máximo valor de la densidad espectral y las anchuras de media cuadrática (r.m.s) σ^2 y δ^2 son independientes de la posición, pero generalmente dependen de la frecuencia [4].

La turbulencia óptica se explica bien por la presencia de irregularidades en el índice de refracción o, los denominados "remolinos turbulentos", que aparecen debido a fluctuaciones en diversas propiedades físicas de la materia, como la temperatura, la presión y la concentración de contenido químico no homogéneo. Tales remolinos se crean en diferentes tipos de materia a través de ciertos mecanismos físicos / químicos / biológicos. El cizallamiento y la mezcla de diferentes partes de las estructuras irregulares bajo la influencia de los vientos en la atmósfera, las corrientes en el océano, el crecimiento celular y la transferencia de fluidos en los bio-tejidos conducen a un mecanismo de transferencia de energía entre remolinos de diferentes tamaños. El tamaño más grande posible de un remolino en el proceso turbulento se toma como la definición de la escala externa L_0 de turbulencia. Los remolinos más grandes se descomponen en otros más pequeños con energía, hasta que el tamaño del remolino alcanza el límite inferior cuando la energía se disipa. El tamaño del remolino más pequeño antes de la disipación define la escala interna l_0 .

Las características estadísticas más importantes del índice de refracción en el espacio tridimensional son los dos primeros momentos: el valor medio de un campo,

$$n_0(\vec{r}) = \langle n(\vec{r}) \rangle_M, \qquad (4)$$

Y su función de covarianza,

207

$$B_{n}(\overrightarrow{r_{1}}, \overrightarrow{r_{2}}) = \langle [n(\overrightarrow{r_{1}}) - n_{0}(\overrightarrow{r_{1}})] [n(\overrightarrow{r_{2}}) - n_{0}(\overrightarrow{r_{2}})] \rangle_{M},$$
(5)

Donde los corchetes angulares con subíndice *M* denotan el promedio del conjunto sobre las realizaciones del medio.

La interacción de los campos electromagnéticos con los medios turbulentos es un proceso muy complejo en el caso general cuando estos últimos son anisotrópicos y no homogéneos. En el rango de inercia de las escalas, a menudo se supone que los medios aleatorios son homogéneos (los momentos estadísticos del campo son invariantes a la translación).

En tales circunstancias, la relación entre la función de covarianza espacial $B_n(\vec{r})$ y el espectro de potencia o densidad espectral de potencia espacial $\Phi_n(\vec{\kappa})$, que determina la distribución de energía entre los remolinos de diferentes tamaños, tiene la forma del par tridimensional de la transformada de Fourier [3],

$$B_n(\vec{r}) = \iiint_{-\infty}^{\infty} e^{i\vec{\kappa}\cdot\vec{r}} \Phi_n(\vec{\kappa}) d^3\kappa, \qquad (6)$$

$$\Phi_n(\vec{\kappa}) = \left(\frac{1}{2\pi}\right)^3 \iiint_{-\infty}^{\infty} e^{i\vec{\kappa}\cdot\vec{r}} B_n(\vec{r}) d^3r, \qquad (7)$$

Aquí $\vec{\kappa} = (\kappa_1, \kappa_2, \kappa_3)$ es el vector tridimensional, cuyos componentes tienen las unidades m^{-1} , representando frecuencias espaciales.

Bajo el supuesto de que las fluctuaciones en el medio turbulento son muy leves, es decir, si $\delta n/n << 1$ sobre las distancias en comparación con la longitud de onda de la luz, el campo eléctrico $U(\vec{r}, \omega)$ en un punto con el vector de posición $\vec{r} = (\vec{\rho}; z)$ satisface la ecuación de onda de la forma,

$$\nabla^2 U(\vec{r},\omega) + k^2 n^2(\vec{r},\omega) U(\vec{r},\omega) = 0.$$
 (8)

La solución a la anterior ecuación diferencial se puede hallar para el campo $U(\vec{r}, \omega)$ en la forma de la integral de Huygens-Fresnel extendida,

$$U(\vec{\mathbf{r}},\omega) = -\frac{ike^{ikz}}{2\pi z} \int U\left(\vec{\boldsymbol{\rho}'},\omega\right) e^{ik\frac{(\vec{\boldsymbol{\rho}'}-\vec{\boldsymbol{\rho}})^2}{2z}} e^{\Psi(\vec{\boldsymbol{\rho}'},\vec{\boldsymbol{r}};\omega)} d^2 \boldsymbol{\rho}'$$
(9)

Donde $\Psi(\vec{\rho'}, \vec{r}; \omega)$ es la perturbación de fase compleja causada por la distribución aleatoria del índice de refracción en el medio.

Si también caracterizamos las fluctuaciones en el campo de propagación por la función de densidad espectral cruzada,

$$W(\overrightarrow{\boldsymbol{r}_{1}}, \overrightarrow{\boldsymbol{r}_{2}}; \omega) = \int \int W\left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho}_{1}}, \overrightarrow{\boldsymbol{\rho}_{2}}; \omega\right) K\left(\overrightarrow{\boldsymbol{r}_{1}}, \overrightarrow{\boldsymbol{r}_{2}}, \overrightarrow{\boldsymbol{\rho}_{1}}, \overrightarrow{\boldsymbol{\rho}_{2}}; \omega\right) d^{2}\rho_{1}' d^{2}\rho_{2}'$$

$$(10)$$

Donde el propagador K viene dado por la expresión,

$$K\left(\overrightarrow{r_{1}},\overrightarrow{r_{2}},\overrightarrow{\rho_{1}'},\overrightarrow{\rho_{2}};\omega\right) = \left(\frac{k}{2\pi z}\right)^{2} e^{-ik\frac{\left(\overrightarrow{\rho_{1}}-\overrightarrow{\rho_{1}}\right)^{2}\left(\overrightarrow{\rho_{2}'}-\overrightarrow{\rho_{2}}\right)^{2}}{2z}} \langle e^{\Psi^{*}\left(\overrightarrow{\rho_{1}'},\overrightarrow{r_{1}};\omega\right)+\Psi\left(\overrightarrow{\rho_{2}'},\overrightarrow{r_{2}};\omega\right)} \rangle_{M}$$

$$(11)$$

El término entre paréntesis angulares representa la función de correlación de la fase compleja perturbada por el medio aleatorio, y el subíndice M denota el promedio sobre las realizaciones del medio. Para la turbulencia homogénea e isotrópica, la función de correlación de fase está relacionada con el espectro de potencia $\Phi_n(\kappa)$ mediante la fórmula,

$$\langle e^{\Psi^* \left(\rho_1^r, \overrightarrow{\mathbf{r}_1}; \omega \right) + \Psi \left(\rho_2^r, \overrightarrow{\mathbf{r}_2}; \omega \right)} \rangle_M$$

= $e^{-4\pi^2 k^2 z \int_0^1 \int_0^\infty \kappa \Phi_n(\kappa) [1 - J_0[|(1 - \xi)(\overrightarrow{\mathbf{r}_1} - \overrightarrow{\mathbf{r}_2}) + \xi(\overrightarrow{\rho_1} - \overrightarrow{\rho_2})|\kappa]] d\kappa d\xi}$ (12)

Donde $J_0(x)$ representa la función Bessel de orden 0.

La expresión del propagador K se reduce a,

$$K\left(\overrightarrow{\boldsymbol{r_{1}}}, \overrightarrow{\boldsymbol{r_{2}}}, \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}'}}, \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}'}}; \omega\right) = \left(\frac{k}{2\pi z}\right)^{2} e^{-ik \frac{\left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}}} - \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}}}\right)^{2} \left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}}} - \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}}}\right)^{2}}{2z}}$$
$$\times e^{-\frac{\pi^{2}k^{2}}{3} \left[\left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}}} - \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}}}\right)^{2} + \left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}}} - \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}}}\right)^{2}\right] + \left(\overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{1}}} - \overrightarrow{\boldsymbol{\rho_{2}}}\right)^{2} \right] \int_{0}^{\infty} \kappa^{3} \Phi_{n}(\kappa) d\kappa}$$
(13)

Por ejemplo, el haz del modelo de Gaussiano Schell que se propaga en un medio turbulento con espectro de potencia $\Phi_n(\kappa)$ tiene una forma analítica particularmente simple de la función de densidad espectral cruzada.

3. Propagación de un haz MGS por tejidos biológicos anisotrópicos

Se supone un haz de luz escalar modelo MGS incidente sobre un tejido biológico anisotrópico con factores de anisotropía $\mu_x = \mu_z \neq \mu_y$, en el plano z = 0, denominado plano fuente o plano de incidencia y se propaga a través de él en el semi-espacio positivo z > 0. Para los tejidos biológicos con anisotropía geométrica, el espectro de potencia tridimensional se puede escribir de la siguiente forma [5],

$$\Phi_{n}(\kappa_{x},\kappa_{y},\kappa_{z}) = \frac{(2\pi)^{3}\sigma_{n}^{2}\mu_{x}\mu_{y}\mu_{z}e^{-\frac{\kappa_{x}^{2}}{\kappa_{mx}^{2}}-\frac{\kappa_{y}^{2}}{\kappa_{my}^{2}}\frac{\kappa_{z}^{2}}{\kappa_{mz}^{2}}}{\kappa_{0}^{3-\alpha}[\kappa_{0}^{2}+4\pi^{2}(\mu_{x}^{2}\kappa_{x}^{2}+\mu_{y}^{2}\kappa_{y}^{2}+\mu_{z}^{2}\kappa_{z}^{2})]^{\frac{\alpha}{2}}},$$

$$3 < \alpha < 4.$$
(14)

Donde α es la pendiente del espectro de potencia, σ_n^2 es la varianza del índice de refracción del tejido biológico, $\mu_x, \mu_y \ y \ \mu_z$ son los coeficientes de resistencia anisotrópica en cada dirección. Además, $\vec{\kappa_0}$ es el vector de frecuencia de corte a gran escala con magnitud $\kappa_0 = \sqrt{\kappa_{x0}^2 + \kappa_{y0}^2 + \kappa_{z0}^2}$ y componentes $\kappa_{x0} = \frac{2\pi}{L_x}, \kappa_{y0} = \frac{2\pi}{L_y}, \kappa_{z0} = \frac{2\pi}{L_z}$ en donde $L_x, L_y \ y \ L_z$ son las escalas exteriores a lo largo de las direcciones $x, y \ y \ z$, respectivamente: $L_x = \mu_x L_0, L_y = \mu_y L_0 \ y \ L_z = \mu_z L_0$. El vector de frecuencia de corte a escala pequeña $\vec{\kappa_m}$ tiene magnitud $\kappa_m = \sqrt{\kappa_{xm}^2 + \kappa_{ym}^2 + \kappa_{zm}^2}$ y componentes $\kappa_{xm} = \frac{2\pi}{l_x}, \kappa_{ym} = \frac{2\pi}{l_y}, \kappa_{zm} = \frac{2\pi}{l_z}$ con $l_x = \mu_x l_0, l_y = \mu_y l_0 \ y \ l_z = \mu_z l_0$. Se empleará la aproximación de Markov, lo que implica que las fluctuaciones en el índice de refracción en cualquier par de puntos a lo largo de la dirección de propagación están correlacionadas. Entonces, el espectro de potencia es,

$$\Phi_n(\kappa_x, \kappa_y, 0) = \frac{(2\pi)^3 \sigma_n^2 \mu_x \mu_y \mu_z e^{-\frac{\kappa_x^2}{\kappa_{mx}^2} - \frac{\kappa_y^2}{\kappa_{my}^2}}}{\kappa_0^{3-\alpha} [\kappa_0^2 + 4\pi^2 (\mu_x^2 \kappa_x^2 + \mu_y^2 \kappa_y^2)]^{\frac{\alpha}{2}}},$$

$$\mathbf{3} < \boldsymbol{\alpha} < \mathbf{4}.$$
 (15)

En la Figura 1 el espectro de potencia de un típico tejido biológico anisotrópico es representado a lo largo de las direcciones x e y. Los parámetros del tejido biológico se han seleccionado de la siguiente manera: $\sigma_n = 2 \times 10^{-2}$, $L_0 = 5\mu m$, $I_0 = 0.2\mu m$, $\mu_x = 1$, $\mu_y = 3$, $\mu_z = 1$, $\alpha = 3.5$. Se observa que el espectro de potencia es mayor a lo largo de la dirección x que en la dirección y.

Espectro de potencia anisotrópico del índice de refracción del tejido biológico



Figura 1. Espectro de potencia anisotrópico del índice de refracción a lo largo de las direcciones x e y.

Para un medio turbulento anisotrópico y el vector con coordenadas cartesianas $\vec{\rho} = (\xi, \eta)$, entonces, la densidad espectral está dada por,

$$S(\vec{\rho}, z) = \frac{1}{\sqrt{\Delta_{\chi}(z)\Delta_{y}(z)}} e^{-\frac{\xi^{2}}{2\sigma_{0}^{2}\Delta_{\chi}(z)}} e^{-\frac{\eta^{2}}{2\sigma_{0}^{2}\Delta_{y}(z)}}$$
(16)

Donde σ_0 denota la media cuadrática de la anchura del haz de la fuente transversal y,

$$\Delta_{\chi}(z) = 1 + \left[\frac{1}{4k^2\sigma_0^4} + \frac{1}{k^2\sigma_0^2} \left(\frac{1}{\delta_0^2} + \frac{2\pi^2k^2Tz}{3\mu_{\chi}^2}\right)\right]z^2 \quad (17)$$

$$\Delta_{y}(z) = 1 + \left[\frac{1}{4k^{2}\sigma_{0}^{4}} + \frac{1}{k^{2}\sigma_{0}^{2}}\left(\frac{1}{\delta_{0}^{2}} + \frac{2\pi^{2}k^{2}Tz}{3\mu_{y}^{2}}\right)\right]z^{2} \quad (18)$$

Con δ_0 como la media cuadrática de la anchura de coherencia de la fuente transversal, $k = 2\pi/\lambda$ como el número de onda angular y,

$$= \frac{\mu_z \sigma_n^2 \kappa_0}{4\pi (\alpha - 2)} \left[\left(+4\pi^2 (-2) \left(\frac{\kappa_m}{\kappa_0} \right)^2 (2\pi)^{2-\alpha} \left(\frac{\kappa_m}{\kappa_0} \right)^{2-\alpha} e^{\frac{\kappa_0^2}{4\pi^2 \kappa_m^2}} \Gamma \left(2 -\frac{\alpha}{2}, \left(\frac{2\pi \kappa_m}{\kappa_0} \right)^{-2} \right) \right] - 2 \right]$$

$$(19)$$

En donde $\Gamma(.,.)$ es la función Gamma incompleta. Además, el valor 1/e de *S* de los haces MGS se usan convencionalmente para los cálculos de las medias cuadráticas de las anchuras de estas distribuciones. En particular, a lo largo de las direcciones x e y,

$$\sigma_{i}(z) = \sigma_{0}\sqrt{\Delta_{i}(z)} = \sqrt{\sigma_{0}^{2} + \frac{z^{2}}{4k^{2}\sigma_{0}^{2}} + \frac{z^{2}}{k^{2}\delta_{0}^{2}} + \frac{2\pi^{2}k^{2}Tz^{3}}{3\mu_{i}^{2}}},$$

$$(i = x, y) \qquad (20)$$

$$\delta_{i}(z) = \left[\frac{1}{\delta_{0}^{2}\Delta_{i}(z)} + \frac{2\pi^{2}k^{2}Tz}{3\mu_{i}^{2}} + \frac{2\pi^{2}k^{2}Tz}{3\mu_{i}^{2}\Delta_{i}(z)}\left(2 - \frac{\pi^{2}Tz^{3}}{6\mu_{i}^{2}\sigma_{0}^{2}}\right)\right]^{-\frac{1}{2}},$$

$$(\mathbf{i} = \mathbf{x}, \mathbf{y})$$
(21)

4. Resultados y discusión

Para todas las siguientes simulaciones se ha utilizado como referencia [4] y se han configurado los valores de los parámetros de la siguiente manera: $\lambda = 0.6328\mu m$, $\sigma_0 = 3mm$, $\sigma_n^2 = 4 \times 10^{-4}$, $L_0 = 5\mu m$, $l_0 = 0.2\mu m$, $\mu_x = 1$, $\mu_y = 3$, $\mu_z = 1$, $\alpha = 3.5$, a menos que se especifiquen

valores diferentes en los títulos de las figuras. Las Figuras 2–6 examinan la evolución del haz irradiado por una fuente coherente ($\delta_0 \rightarrow \infty$) mientras que la Figura 7 ilustra los efectos de la coherencia parcial de la fuente ($0 < \delta_0 < \infty$).

La Figura 2 muestra que la relación más pequeña μ_x/μ_y , es decir, la anisotropía más fuerte del tejido da como resultado la relación más grande de los dos semiejes de la elipse. La Figura 3 demuestra cómo los diferentes valores de la pendiente del espectro de potencia α afectan la evolución de la densidad espectral del haz y que para valores mayores de α , su densidad espectral conserva su perfil plano. En la Figura 4 se muestra el efecto de la anchura del haz inicial σ_0 en la distribución de densidad espectral del haz de propagación y que los haces inicialmente más pequeños son más susceptibles a la anisotropía del bio-tejido, cambiando gradualmente a los perfiles elípticos.

En la Figura 5 se explora los efectos de los parámetros del bio-tejido en la evolución de las medias cuadráticas de las anchuras del haz σ_i (i = x, y). Se observa que cuando σ_n^2 aumenta, entonces σ_i también aumenta. Pero cuando cualquiera de los siguientes parámetros α , L_0 o l_0 aumenta, entonces σ_i disminuye. En la Figura 6 se muestra los efectos de la coherencia de la fuente en la dispersión del haz y en el estado de coherencia de la luz que se propaga. Se observa que el estado de coherencia de la fuente no afecta en absoluto el tamaño del haz. Esto se explica por el hecho de que en ambos casos el ancho de coherencia de la fuente disminuye rápidamente con la distancia de propagación. Por lo tanto, el ancho y el estado de coherencia del haz están determinados únicamente por las correlaciones de los bio-tejidos.



Figura 2.Densidad espectral para diferentes valores de ratios anisotrópicos μ_x/μ_v en z = 1cm.



Figura 3.Densidad espectral para diferentes valores de α en z = 1mm.



Figura 4.Densidad espectral para diferentes valores de σ en z = 1mm.

La influencia de una distribución particular de esparcidores puede ser analizada por las funciones de Green. Se ha aplicado el método Huygens-Fresnel extendido para la evaluación analítica de la densidad espectral del haz de propagación y su estado de coherencia, dentro de la validez de la aproximación de Markov. Se ha proporcionado una variedad de ejemplos numéricos que ilustran los efectos de la fuente y los parámetros del tejido en la evolución del haz. Los resultados de este estudio pueden ser útiles en el diagnóstico médico y el tratamiento de bio-tejidos anisotrópicos mediante radiación óptica.



Figura 5. Medias cuadráticas de las anchuras σ_i (i = x, y) para diferentes parámetros de la fuente y de los tejidos.



*Figura 6.*Medias cuadráticas de las anchuras σ_i (i = x, y)

5. Agradecimientos

Este Trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Modificación mediante alta presión de las propiedades plasmónicas y luminiscentes de nanopartículas de metales y óxidos desnudas y recubiertas" (PGC2018-101464-B-I00), del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

6. Referencias

- Brezinski, M. E., Tearney, G. J., Bouma, B., Boppart, S. A., Pitris, C., Southern, J. F. and Fujimoto, J. G., "Optical biopsy with optical coherence tomography," Ann. Ny. Acad. Sci. 838(1), 68-74 (1998).
- [2] Arce-Diego, JL, Fanjul-Velez, F., Ganoza-Quintana, JL. Optical coherence propagation in biological tissues with significant scattering by Green's functions. Frontiers in Optics / Laser Science. OSA Technical Digest (Optical Society of America, 2018), paper JTu3A.106.
- [3] Korotkova O. Random Light Beams: Theory and Applications. CRC Press, 2013 (ISBN: 1439819505).
- [4] Andrews LC, Phillips RL. Laser beam propagation through random media. SPIE Press, 2005 (ISBN: 0819459488).
- [5] Chen X, Korotkova O. Optical beam propagation in soft anisotropic biological tissues. OSA Continuum Vol. 1, Issue 3, pp. 1055-1067 (2018)
Effects of fixation solutions for rodent fibrosis assessment with OCT and hyperspectral imaging

E. Real^{1,2,3}, J.A. Gutiérrez-Gutiérrez^{1,2}, A. Pardo^{1,2}, X. Suárez-Calvet^{4,5}, J. Díaz-Manera^{4,5}, J.M. López-Higuera^{1,2,3}, Olga Conde^{1,2,3}

¹ Photonics Engineering Group, University of Cantabria, Santander, Spain <u>{eusebio.real, josealberto.gutierrez, arturo.pardo, olga.conde, miguel.lopezhiguera</u>}@unican.es

² IDIVAL - Valdecilla Biomedical Research Institute, Santander, Spain

³ CIBER-BBN – Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

⁴ Neuromuscular Diseases Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain { <u>XSuarez</u>, <u>JDiazM</u>}@santpau.cat

⁵ CIBER-ER – Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Summary

The assessment of fibrosis tissue is of great importance for different pathologies. Histological analysis provides accurate information about connective tissue presence and tis concentration, but this methodology requires tissue biopsy and time-consuming staining and fixation procedures. Muscle and tendinous tissue present high optical birefringence, in contrast with other biological tissue. Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography (PS-OCT) has been applied to assess damage in muscle and to characterize tendons based on alteration of the birefringence properties of tissue. Hyperspectral imaging has been widely used to identify and quantify spectral signatures of tissue components such as collagen, fat, haemoglobin and others. In this work, PS-OCT and hyperspectral imaging are combined to help in the assessment of fibrotic presence and quantification in tissue. Preliminary measurements are presented, showing the application of both technologies in specimens preserved with different fixation solutions. The goal is to select the fixation solution that does not alter the tissue properties to be measured, or at least, to be able to correct or compensate their effect. The study of the effect of such solutions in the measurements to be acquired is relevant in order to obtain comparable information and absolute quantifiable values that can be acquired with

independence of the setup, fixation solution, concentration or

1. Motivation

others.

The application of optical imaging techniques such as OCT (Optical Coherence Tomography) or HSI (Hyperspectral Imaging) is proposed to noninvasively assess the degradation of skeletal muscle in cases of neuromuscular disorders such as DMD (Duchenne Muscular Dystrophy) and BMD (Becker Muscular Dystrophy). For the diagnosis and follow-up of patients with muscle dystrophy, apart from genetic profiling and muscle biopsies, non-invasive techniques are required to assess the skeletal muscle degeneration at each stage of the disease's progression to inform of the presence of oedema [1], fibrosis [2], necrosis [3] or fatty infiltration [1]. This assessment is crucial in the development and evaluation of the efficacy of antifibrotic therapy approaches, namely pharmaceutical [4], nutritional, exercise-based as well as other mechanostimulatory modalities. A preventive intervention at an early age is critical due to the sudden onset and seemingly non-reversible nature of fibrotic tissue changes [2].

Recently developed optical imaging techniques, such as OCT (Optical Coherence Tomography) [5, 6], have demonstrated their potential for high-resolution and minimally invasive imaging. OCT is a reflectance-mode optical imaging modality that produces 3-D images of tissue structure. OCT imaging has been demonstrated to be capable of displaying changes in myofibers due to necrosis in whole ex-vivo murine muscles [3, 7]. A functional extension of OCT based on optical polarization has recently shown preliminary results on quantification of heart damage in a mouse model of DMD [8]. Moreover, optical absorption characteristics of tissue could help to detect the presence of fatty infiltrations and fibrosis through the quantification of collagen [9, 10].

Towards the development of a feasible assessment methodology, ex-vivo experiments need to be pursued to validate the technology. Working with fresh tissue is usually a difficult process due to specimen handling logistics (travels due to distant laboratories, etc.). To this end, specimens need to be fixed in different solutions to preserve its integrity. This work proposes the characterization of mice muscular tissue embedded in different fixation solutions to infer the effects of the fixation on the OCT and hyperspectral measurements.

2. Materials and methods

2.1. Mice muscular specimens

Ex-vivo quadriceps were excised from C57BL6 mice (Jackson Laboratory). One of the samples was preserved in a paraformaldehyde (PFA) solution at 4% (Sigma-Aldrich), whilst the other sample was preserved in a glutaraldehyde solution at 25% (Sigma-Aldrich). Specimens where preserved at 5°.

2.2. Optical Coherence Tomography

The OCT setup used is Thorlabs OCS-1300, equipped with the Polarization Sensitive module PSOCT-1300. This presents a central wavelength of 1325nm, with 100nm FWHM. It provides a penetration up to 3 mm, with a lateral resolution of 12 microns and a lateral resolution of 25 microns. Volumetric scans where collected from the specimens, presenting dimensions of 10 x 8 mm lateral and 3/n mm in depth, where n represents the refractive index of the sample. For muscle, Phase retardation measured in rad/micron can be converted to birefringence based on [11]. This procedure implies first, the computation of the phase retardation (φ_w) between both polarization states (Figure 1 a). Phase retardation is limited in the range $[-\pi, \pi]$ rad (Figure 1b), but accumulation of phase retardation (φ_u) can be computed to see evolution of phase in depth (Figure 1 c). Birefringence, understood as the difference between orthogonal refractive indices in the sample, can be computed as a function of the slope of phase



Figure 1. OCT measurements of muscular tissue. Phase retardation image (a) and the procedure to compute birefringence in one A-scan: the phase retardation A-scan (b) represents phase increments that produce phase accumulation in depth (c). This cumulative phase is fitted to obtain the slope and to reduce noise (d).

n=1.38 has been considered.

PS-OCT technique quantifies the phase retardation produced between orthogonal polarization states in the sample. For this aim, the PS-OCT setup employs circular polarized light and the detector is formed by two orthogonal polarization detectors. accumulation using equation [11]:

$$\Delta n = n \Delta \phi_u \frac{\lambda_0}{4\pi} \tag{1}$$

Where n is the refractive index of the sample, λ_0 the central wavelength of the OCT system and $\Delta \phi_u$ is the slope of the cumulative phase. To achieve more precise values of this parameter and reduce the effect of noise,



Figure 2. Muscle specimens under different fixation solutions: (top) paraformaldehyde; (bottom) glutaraldehyde. Conventional photography (a, d); OCT end-face images computed by averaging the OCT volume in depth (b, e); HSI images (c, f) showing the average value of the spectrum measured in the VIS-NIR region.

this parameter is estimated by fitting the cumulative phase by a line (Figure 1d).

2.3. Hyperspectral imaging

HSI data have been acquired with two different custom systems based on scanning of a rotary mirror [12]. These systems acquire 3-dimensional data, comprising two lateral dimensions being the third dimension the optical spectrum at each point. The first setup works in the VIS-NIR range, from 400 to 1000nm and provides a spatial resolution of 216 um per pixel and 140 um per pixel in the x and y axes, respectively. The SWIR setup works from 900 to 1700 nm and has a resolution of 500 um per pixel in the x axis and 90 um in the y axis. The spectral resolution of both setups is 3 nm and field of view of 10 x 10 nm^2 .

Conventional photography is used to retrieve precise information from tissue locations, allowing to detect presence of fibrosis in different locations. The average spectrum can be used to identify the spectral firm of the whole sample.

3. Results and discussion

The data acquired both with OCT and HSI setups can be compared aided by conventional photography. Figure 2 displays the effect of the fixation solution as appear to the naked eye through conventional photography. The sample preserved in PFA solution presents white appearance (Fig. 2a), whilst the sample preserved in glutaraldehyde presents a brownish appearance (Fig. 2d), where representation is true colour.

OCT *en-face* images are produced averaging the information measured in the whole depth, showing the average morphology at each position. In the case of intensity OCT images, the fixation solutions do not produce relevant differences (Fig. 2b, 2e). In both images the parallel orientation of muscle fibres can be observed, as a feature of healthy muscle. Representation is in grayscale where arbitrary units represent backscattering intensity.

Hyperspectral firm has been represented as an average of

The detailed analysis of spectra provides a different approach. Figure 3 shows the spectra of both muscle specimens with different fixation solutions: PFA embedding in green line and glutaraldehyde embedding in in red line. In the VIS-NIR region of the spectra (Fig. 3a), notable differences are seen between both specimens. This part of the spectrum corresponds to the visible range. The spectrum of the specimen preserved in glutaraldehyde presents reflectance only in the spectral regions that correspond to red color. This agrees with what is displayed in Figure 2d. In the case of the specimen preserved in PFA, the spectrum is flatter correspondingly with the white appearance of Figure 2a.

In the case of SWIR spectral range (Figure 3b the spectral features behave similarly within the whole spectral range. Collagen absorption appears around 1200 nm as expected [9, 10]. However, in the region between 1050 nm the sample preserved in glutaraldehyde exhibits higher absorption. As fibrosis assessment is directly related to collagen quantification and neither of the fixation solutions interfere in this wavelength range, it can be concluded that fixation solution would not constrain in the fibrosis quantification.

The analysis of the birefringence features produces a birefringence map for each specimen (Figure 4a, 4b). When compared, this parameter results quite homogeneous, but it shows small inhomogeneities that are due to small tissue heterogeneities. When both specimens are contrasted, the one preserved in glutaraldehyde (Figure 4b) shows higher uniformity. This may be due to effect of fixation.

Figure 4c displays the variability of birefringence among both specimens through boxplot diagrams. Those diagrams show in a blue box the region that comprehends from 25% to 75% of observations, being the red line 50% of observations. Black line represents 5% and 95% and red whiskers show frequency lower than 5%. The specimen preserved in PFA presents a median birefringence value of 0.0031, compared with 0.0038 for the sample preserved in glutaraldehyde. This is a great difference, as it affects the fourth decimal of the refractive



Figure 3. Average spectra of all points in both samples. (a) spectra in the VIS-NIR range (400-1000 nm); (b) spectra in the SWIR range (1000-1700 nm). Black markers show the spectral regions where both samples differ.

the whole spectrum at each point (Fig. 2c, 2f). These images present lower resolution, yet it provides a great number of spectral points in the sample. Both specimens present homogeneous colour, i.e. both samples show spectral continuity along the whole tissue specimen.

index.

Conclusion

Birefringence and spectral signatures of two mice muscle specimens have been measured and quantified. Specimens preserved with different fixation solutions produce



Figure 4. Birefringence map quantified for different in the samples treated with different solutions: (a) PFA, (b) glutaraldehyde; (c)boxplots representing birefringence variability for each specimen. Median birefringence value is displayed next to each boxplot.

differences both in the spectral features of samples, and in the birefringence properties of tissue. This implies two conclusions: first, both preservation solutions induce different birefringence values, altering intrinsic tissue optical properties. The undesired alteration of these properties makes both solutions non-viable for preservation of tissue to be analysed with these techniques. Other procedures must be further studied, such as freezing at -80°, that do not modify optical properties of specimens. The second conclusion is that birefringence is a sensitive tool, capable of producing consistent values within a sample, and also very sensitive to asses' small differences in tissue such as different preservation procedures or solutions.

Acknowledgements

This work has been funded by DTS17/00055 (IDIVAL), POS-UC-2018-16 (University of Cantabria Postdoctoral grant), TEC2016-76021-C2-2-R co-funded AEI/FEDER, PI18/1525 (Instituto de Salud Carlos III, FEDER) and Post-doctoral Sara Borrell CD18/00195 (Instituto de Salud Carlos III, FSE).

References

- Díaz-Manera J, Jaume Llauger J,Gallardo E, Illa I. Muscle MRI in muscular dystrophies. *Acta Myologica*, vol 34, sup 2-3, 2015, pp 95-108.
- [2] Klingler W, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F, Schleip R. The role of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myologica*, vol 31, sup 3, 2012, pp 184-195.
- [3] Yang X, Chin L, Klyen BR, Shavlakadze T, McLaughlin RA, Grounds MD, Sampson DD. Quantitative assessment of muscle damage in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy using polarization-sensitive optical coherence tomography. *Journal of Applied Physiology*, vol 115, sup 9, 2013, pp 1393-1401.
- [4] Piñol-Jurado P, Suárez-Calvet X, Fernández-Simón E, Gallardo E, de la Oliva N, Martínez-Muriana A, Gómez-Gálvez P, Escudero LM, Pérez-Peiró M, Wollin L, de Luna N, Navarro X, Illa I, Díaz-Manera J. Nintedanib decreases

muscle fibrosis and improves muscle function in a murine model of dystrophinopathy. *Cell death & disease*, vol 9, sup 7, 2018, pp 776.

- [5] Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography. *Science*, vol 254, sup 5035, 1991, pp 1178 -1181.
- [6] Low AF, Tearney GJ, Bouma BE, Jang IK. Technology Insight: optical coherence tomography --current status and future development. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, vol 3, sup 3, 2006, pp 154-162.
- [7] Klyen BR, Shavlakadze T, Radley-Crabb HG, Grounds MD, Sampson DD. Identification of muscle necrosis in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy using three-dimensional optical coherence tomography. *Journal* of Biomedical Optics, vol 16, sup 7, 2011, pp 076013.
- [8] Wang Y, Ravanfar M, Zhang K, Duan D, Yao G. Automatic quantification of microscopic heart damage in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy using optical polarization tractography. Journal of Biophotonics, vol 11, sup 4, 2018, pp e201700284.
- [9] Sordillo DC, Sordillo LA, Sordillo PP, Shi L, Alfano RR. Short wavelength infrared optical windows for evaluation of benign and malignant tissues. *Journal of Biomedical Optics*, vol 22, No 4, 2017, pp 045002 (ISSN: 1083-3668).
- [10] Sekar SK, Bargigia I, Mora AD, Taroni P, Ruggeri A, Tosi A, Pifferi A, Farina A. Diffuse optical characterization of collagen absorption from 500 to 1700 nm, Journal of Biomedical Optics, vol 22, sup 1, 2017, pp 15006.
- [11] Chin L, Yang X, McLaughlin RA, Noble PB, Sampson DD. En face parametric imaging of tissue birefringence using polarization-sensitive optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, vol 18, sup 6, 2013, pp 066005
- [12] Gutiérrez-Gutiérrez JA, Pardo A, Real E, López-Higuera JM, Conde OM. Custom Scanning Hyperspectral Imaging System for Biomedical Applications: Modeling, Benchmarking, and Specifications", *Sensors*, vol 19, sup 7, 2019, pp 1692.

Diagnóstico de esclerosis múltiple a partir de imágenes de tomografía de coherencia óptica

C. Cavaliere¹, M. Ortiz², R. Barea¹, E. García-Martín³, MJ. Rodrigo³, E. Vilades³, L. Boquete¹

¹ Departamento de Electrónica, Universidad de Alcalá, España

² School of Physics, University of Melbourne, Australia

³ Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza. Universidad de Zaragoza. Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón

Resumen

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad diagnóstica entre pacientes con esclerosis múltiple (EM) y controles utilizando medidas del espesor de diferentes capas de la retina, obtenidas mediante un sistema Swept Source OCT (tomografía de coherencia óptica).

Se dispone de los registros de OCT del ojo derecho de 18 pacientes con EM sin neuritis óptica previa (H:M =2:16; 49,11±12,52 años) y 31 sujetos de control (H:M=8:23; 58,87± 10,14 años), formados por 45x60 puntos de medida entre la mácula y la cabeza del nervio óptico. Se analizan los espesores de la retina (desde la membrana limitante interna (ILM) hasta el límite entre el epitelio pigmentario y la capa de fotorreceptores); RNFL (Retinal Nerve Fiber Layer): desde la ILM hasta el límite interno de la capa de células ganglionares; GCL+: desde el límite interno de la capa de células ganglionares hasta el límite externo de la IPL (capa plexiforme interna); GCL++: desde la ILM hasta la línea IPL/INL y coroides: desde la membrana de Bruch hasta la superficie escleral de la coroides, en la zona macular y en la zona peripapilar. Se realiza el análisis de las imágenes mediante una ventana cuadrada de dimensiones L*L calculando el valor de AUC (área bajo la curva) para determinar la capacidad discriminante. La mejor capacidad discriminante obtenida por cada capa es: $AUC_{RNFL}=0.76$, $AUC_{RETINA}=0.82$, $AUC_{GCL+}=0.88$, AUC_{GCL++}=0.87 y AUC_{COROIDES}=0.70. La máxima capacidad discriminante entre pacientes y controles se obtiene en las capas GCL+y GCL++.

1. Introducción

1.1. Esclerosis múltiple

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad crónica, desmielinizante e inflamatoria del sistema nervioso central (SNC), que afecta principalmente a adultos jóvenes (20 - 40 años) [1]. Se caracteriza por procesos de inflamación, desmielinización y destrucción axonal, que confieren a esta enfermedad una gran variabilidad en los aspectos patogénicos y de respuesta al tratamiento. Es la segunda causa de discapacidad en jóvenes detrás de los accidentes de tráfico.

Como el nervio óptico es una extensión del SNC, su estudio sirve como biomarcador o ventana de cómo se encuentra de afectado el resto del sistema nervioso por la enfermedad o de cómo ésta va progresando. Por ejemplo,

análisis post mortem demuestran que la mayoría (94-99%) de los pacientes con EM tienen afectado el nervio óptico [2]. Algunas de las células que forman la retina, organizadas en 10 capas, como los fotorreceptores, células bipolares y las células ganglionares, son células neuronales, de ahí que los efectos de la EM se reflejen en su estructura.

La valoración objetiva de la afectación de la vía visual se puede realizar principalmente mediantes técnicas funcionales (potenciales evocados visuales) [3][4] o pruebas estructurales, como puede ser la medida del espesor de determinadas capas de la retina.

Los procesos patogénicos presentes en el desarrollo de EM, se manifiestan a nivel del ojo principalmente como pérdida de las células nerviosas no mielinizadas de la retina, que se correlacionan de forma fiable con la pérdida axonal del resto del SNC. A partir del primer trabajo de Parisi et al. (1999) [5], en el que se observó una reducción en el espesor de la capa de fibras nerviosas en pacientes con EM y con neuritis óptica (NO) previa, trabajos posteriores han demostrado que el espesor de las capas de la retina, tanto en pacientes con y sin NO, puede ser un potencial biomarcador de EM, incluso antes de la presentación de síntomas clínicos [6].

1.2. Tomografía de coherencia óptica

La medida del espesor de diferentes capas de la retina se puede realizar de forma no invasiva mediante la técnica de tomografía de coherencia óptica (OCT). Mediante un sistema de interferometría óptica de baja coherencia, se puede medir la distancia a partir de la luz reflejada por diferentes tejidos y con ello, se obtiene la morfología tisular de capas con diferentes índices de reflectividad. En los últimos años se han producido grandes avances en esta técnica (sistemas en el dominio del tiempo, de la frecuencia, Swept Source OCT) que permiten obtener medidas de gran calidad de un gran número de capas retinianas.

1.3. Objetivo

El objetivo de este estudio es evaluar la capacidad diagnóstica entre pacientes con EM y controles utilizando los valores del espesor de varias de las capas retinianas, medidas con un sistema de OCT de última generación.

2. Método

2.1. Base de datos

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS), se han seguido los protocolos recogidos en la declaración de Helsinki y los participantes ratificaron su consentimiento por escrito.

Los registros fueron adquiridos en el Servicio de Oftalmología del HUMS. Se obtuvieron los registros OCT de 18 pacientes con diagnóstico precoz de EM (H:M=2:16) con una edad de 49,11 \pm 12,52 y de 31 sujetos de control (H:M=8:23) con una edad de 58,87 \pm 10,14 años.

Se utilizaron pacientes afectos de EM en fases tempranas de la enfermedad y sin afectación específica del nervio óptico (se excluyen ojos con antecedentes de neuritis óptica porque en ellos la pérdida de espesor suele ser más marcada). Otros casos con enfermedad más avanzada son de fácil diagnóstico, pero los pacientes en las primeras fases de la enfermedad son útiles para ver la capacidad de la OCT como método de diagnóstico precoz.

2.2. Obtención de los registros de OCT

El análisis estructural de las capas de la retina se ha realizado mediante un sistema de tomografía de coherencia óptica de barrido modelo Topcon DRI OCT Triton Swept source OCT: SS-OCT (Topcon, Japón). El valor medio de la longitud de onda utilizado es de 1050 nm [7], mejorando la penetración tisular y aumentando la velocidad de escaneo (100 000 cortes/sg) con respecto a tecnologías OCT previas. El protocolo de exploración es una rejilla con 60x45 puntos de medida para cada una de las capas exploradas que abarca el área macular y peripapilar, cubriendo una superficie de 9 mm de alto x 12 mm de ancho.

2.3. Capas exploradas

El sistema de adquisición OCT implementa sus propios algoritmos de segmentación de las capas analizadas (Topcon Advanced Boundary Software®) y permite exportar los datos de espesor para su posterior visualización y/o análisis. Se indica una escala de calidad de la imagen, entre 0 (calidad mínima) y 100 (máxima calidad), descartando imágenes de calidad inferior a 55 y repitiendo la exploración.

Un operador experimentado obtuvo los siguientes espesores:

Espesor de la retina: desde la membrana limitante interna (ILM) hasta el límite entre el epitelio pigmentario y la capa de fotorreceptores.

Espesor de la RNFL (Retinal Nerve Fiber Layer): desde la ILM hasta el límite interno de la capa de células ganglionares.

Espesor GCL+: Desde el límite interno de la capa de células ganglionares hasta el límite externo de la IPL (capa plexiforme interna).

Espesor GCL++: Desde la ILM hasta la línea IPL/INL, englobando así tanto la RNFL como la capa de células ganglionares.

Espesor coroides: desde la membrana de Bruch hasta la superficie escleral de la coroides, en la zona macular y en la zona peripapilar.

En este estudio solamente se realiza el análisis del ojo derecho de cada uno de los sujetos participantes. En la Fig. 1 se muestran los espesores analizados para un sujeto de control y un paciente.



Figura 1. Espesores de las capas retinianas en un sujeto de control (a) y en un paciente (b). En orden descendente, espesor de: RNFL, retina, GCL+, GCL++ y coroides.

2.4. Análisis de la capacidad discriminante

Para cada una de las capas disponibles, se evalúa la diferencia entre el valor medio de los espesores en los

sujetos de control y el valor medio en los pacientes, utilizando como criterio de análisis el área bajo la curva (AUC).

El análisis se realiza considerando ventanas cuadradas de dimensiones LxL (Lmin=5; Lmax= 30), desplazadas sobre la rejilla de datos. Para todos los valores de L y para cada una de las capas se realiza la búsqueda de la ventana de análisis en la que se obtiene la máxima diferencia (AUC máxima) entre controles y pacientes. En la Fig. 2 se muestra el flujograma del proceso, para una de las capas analizadas.



Figura 2. Método de búsqueda de la mejor AUC.

3. Resultados

La Figura 3 muestra el valor máximo de AUC en función del tamaño de la ventana de análisis para las 5 capas analizadas. En general, el mejor valor de AUC disminuye para ventanas de análisis de dimensiones elevadas.

La tabla 1 presenta, para las diferentes capas analizadas, el valor óptimo de L, las coordenadas de inicio de la ventana más discriminante y el máximo valor de AUC. Se puede observar que en la mayoría de los casos, el tamaño óptimo de la ventana de análisis es de 7x7, salvo en la capa RNFL que es 5x5. Según estos resultados, la máxima capacidad diagnóstica se presenta en las capas GCL+ y GCL++, en la zona de coordenadas (15, 23) y (13, 22) respectivamente, que se corresponde con la mácula, zona de máxima agudeza visual y muy rica en fotorreceptores.

En la tabla 2 se muestran los valores de los espesores de las capas en las zonas que se obtienen el valor máximo de AUC. Como era esperable, en todos los casos los valores en controles son superiores a los espesores de los pacientes, ya que los resultados en controles suelen ser más homogéneos y con menor variabilidad.



Figura 3. Variación de la AUC máxima en función de L.

Сара	L	Coordenada inicio (C,F)	Valor de AUC máxima
RNFL	5	(47, 28)	0,7652
Retina	7	(14, 23)	0,8262
GCL+	7	(15, 23)	0,8781
GCL++	7	(13, 22)	0,8763
Coroides	7	(37, 39)	0,7025

Tabla 1. Mejores valores de L y de AUC

Capa	Espesor (μm) Controles	Espesor (µm) EM
RNFL	$80,\!48 \pm 31,\!62$	$61,11 \pm 11,77$
Retina	$288,\!18 \pm 13,\!90$	$272,45 \pm 9,93$
GCL+	$76,07 \pm 6,74$	$63,\!23 \pm 9,\!70$
GCL++	$97,\!60 \pm 8,\!24$	$83,52 \pm 9,29$
Coroides	135,00 ± 90,69	$149,69 \pm 39,36$

Tabla 2. Valores en la zona de máxima AUC

4. Discusión

El diagnóstico erróneo en EM es una realidad debido a que no existe un biomarcador específico para esta enfermedad; por ejemplo, el 30% de los pacientes con sospecha de EM derivados a un centro especializado terminan con un diagnóstico final diferente [8]. Por lo tanto, es conveniente investigar nuevos biomarcadores para esta enfermedad, como pueden ser los relacionados con el nervio óptico. Los avances en la técnica de OCT permiten obtener medidas estructurales de gran calidad de la morfología tisular de la retina. Aunque existen un gran número de trabajos que analizan los espesores de la retina mediante OCT en pacientes con EM [6], en todos los casos el análisis se realiza en regiones prefijadas, por ese motivo, nuestro objetivo ha sido explorar el conjunto de datos mediante ventanas cuadradas.

En nuestro estudio la mayor capacidad discriminante entre sujetos de control y pacientes se obtiene con una ventana cuadrada de análisis de dimensiones L=7 y en las capas GCL+ y GCL++. Este resultado concuerda con trabajos que indica que la capa GCL+ es la más sensible en procesos neurodegenerativos [9].

Las coordenadas de esta situación se corresponden con la zona macular superior, la zona que está más próxima a la fóvea y cuyos axones se dirigen hacia la cabeza del nervio óptico por el haz papilomacular, desde la mácula hasta el cuadrante temporal del disco óptico. Esta es la zona más sensible en nuestra población de pacientes, compuesta por enfermos en fases iniciales de la patología. En estos pacientes, que tienen poca afectación, se presupone que su cuadrante superior es el más grueso (al igual que en los sujetos sanos) y que es precisamente esta zona más espesa la que va a presentar la afectación más precoz. Y además observamos que corresponde con la afectación del cuadrante temporal peripapilar a nivel del disco óptico, que es precisamente el que se afecta de forma precoz en las patologías neurodegenerativas como la esclerosis múltiple.

La menor capacidad discriminante se presenta en la capa coroidea, lo cual no es sorprendente, debido a que es una capa altamente vascularizada, con pocas fibras nerviosas y con datos muy variables y alta desviación estándar.

Nuestros resultados superan un trabajo reciente [10] en el que se obtiene un valor de AUC=0,75 en el análisis de la capa plexiforme interna, aunque esta conclusión puede estar influida por las diferentes características de los sujetos y los métodos intervinientes en ambos estudios.

5. Conclusión

Mediante el análisis estructural de las capas de la retina, se puede contribuir al diagnóstico y estudio de la evolución de pacientes con EM, mediante un estudio de regiones diferente al actualmente establecido.

Agradecimientos

Financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades mediante el proyecto: DPI2017-88438-R, "Investigación de la técnica de potenciales evocados visuales multifocales. Aplicación en estudios de evolución de esclerosis múltiple y evaluación de medicamentos" (IP: LB).

PI17/01726 (Instituto de Salud Carlos III) (EGM, EV y MJR) RETICS: "Enfermedades oculares: prevención, detección precoz y tratamiento de la patología ocular prevalente degenerativa y crónica: OFTARED". (EGM: RD16/0008/029) (LB: RD16/0008/020).

Referencias

- Sospedra M, Martin R. IMMUNOLOGY OF MULTIPLE SCLEROSIS. Annu Rev Immunol. 2005;23: 683–747. doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115707
- [2] Ikuta F, Zimmerman HM. Distribution of plaques in seventy autopsy cases of multiple sclerosis in the United States. Neurology. 1976;26: 26–8. doi:10.1212/wnl.26.6_part_2.26
- [3] Blanco R, Pérez-Rico C, Puertas-Muñoz I, Ayuso-Peralta L, Boquete L, Arévalo-Serrano J. Functional assessment of the visual pathway with multifocal visual evoked potentials, and their relationship with disability in patients with multiple sclerosis. Mult Scler. 2014;20: 183–91. doi:10.1177/1352458513493683
- [4] De Santiago L, Ortiz del Castillo M, Blanco R, Barea R, Rodríguez-Ascariz JM, Miguel-Jiménez JM, et al. A signalto-noise-ratio-based analysis of multifocal visual-evoked potentials in multiple sclerosis risk assessment. Clin Neurophysiol. 2016;127: 1574–1580. doi:10.1016/j.clinph.2015.09.129
- [5] Parisi V, Manni G, Spadaro M, Colacino G, Restuccia R, Marchi S, et al. Correlation between morphological and functional retinal impairment in multiple sclerosis patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999;40: 2520–7. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10509645
- [6] Petzold A, Balcer LJ, Calabresi PA, Costello F, Frohman TC, Frohman EM, et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol. 2017;16: 797–812. doi:10.1016/S1474-4422(17)30278-8
- [7] Lavinsky F, Lavinsky D. Novel perspectives on sweptsource optical coherence tomography. Int J Retin Vitr. 2016;2: 25. doi:10.1186/s40942-016-0050-y
- [8] Yamout BI, Khoury SJ, Ayyoubi N, Doumiati H, Fakhreddine M, Ahmed SF, et al. Alternative diagnoses in patients referred to specialized centers for suspected MS. Mult Scler Relat Disord. 2017;18: 85–89. doi:10.1016/j.msard.2017.09.016
- [9] Garcia-Martin E, Polo V, Larrosa JM, Marques ML, Herrero R, Martin J, et al. Retinal layer segmentation in patients with multiple sclerosis using spectral domain optical coherence tomography. Ophthalmology. 2014;121: 573–9. doi:10.1016/j.ophtha.2013.09.035
- [10] Shi C, Jiang H, Gameiro GR, Hu H, Hernandez J, Delgado S, et al. Visual Function and Disability Are Associated With Focal Thickness Reduction of the Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer in Patients With Multiple Sclerosis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2019;60: 1213–1223. doi:10.1167/iovs.18-25809

Discriminación de tejidos biológicos mediante espectroscopía óptica intrínsica y extrínseca para cirugía guiada

F. Fanjul-Vélez^{1*}, A. M. Díaz-Martínez^{2,3,4*}, E. Garro-Martínez^{1,2}, J. L. Arce-Diego¹

¹Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, <u>fanjulf@unican.es</u>, <u>diazma@unican.es</u>

²Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Instituto de Salud Carlos III, Santander, Spain.

³Instituto de Biotecnología y Biomedicina de Cantabria (IBBTEC), Universidad de Cantabria-CSIC-SODERCAN, Avda. Albert Einstein, 22, 39011, Santander, España

⁴Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, Santander, España

*En este trabajo han contribuido por igual ambos autores.

Resumen

En aplicaciones de discriminación de tejidos biológicos, las técnicas ópticas se emplean habitualmente en la práctica médica para el diagnóstico de patologías, incluyendo aplicaciones de cirugía guiada. Entre sus ventajas frente a técnicas que emplean otras radiaciones se encuentran su carácter no ionizante, no invasivo o mínimamente invasivo, la capacidad de localización precisa y la ausencia de contacto. La información espectroscópica puede proporcionar el contraste necesario para lograr la discriminación buscada. En caso de que el contraste intrínseco no sea suficiente, es posible emplear el fenómeno de la fluorescencia en substancias extrínsecas. 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. En este trabajo se analizan y aplican sobre animales las técnicas espectroscópicas intrínsecas y extrínsecas, con objeto de conocer si son susceptibles de servir como herramientas de discriminación de tejidos biológicos.

1. Introducción

Las aplicaciones de la óptica en la práctica médica se basan en primera aproximación en el estudio de la interacción luztejido biológico. La mayor parte de los tejidos biológicos pueden definirse, bajo el punto de vista óptico, como medios turbios multicapa. Esta definición implica la presencia de propiedades de absorción, pero asimismo un elevado esparcimiento. En la interacción entre la radiación óptica y los tejidos biológicos se pueden distinguir distintos efectos. Entre los más relevantes en la mayor parte de las técnicas aplicadas a la práctica biomédica se encuentran la reflexión y transmisión, así como el esparcimiento y la absorción anteriormente mencionados. La propagación de la radiación óptica en un tejido biológico puede ser estimada a partir de, entre otros, los efectos anteriores. La relevancia de estos efectos debe ser primeramente cuantificada, con objeto de poder llevar a cabo análisis y diseños. Habitualmente se emplean las denominadas propiedades ópticas para caracterizar los tejidos biológicos, como el índice de refracción, el coeficiente de absorción, el coeficiente de esparcimiento, o la anisotropía de esparcimiento [1]. La propiedad de la absorción es particularmente relevante, en

tanto en cuanto influye en gran medida en la profundidad de penetración de la radiación óptica. Así, por ejemplo, aparece como fundamental en el diseño de un determinado equipamiento diagnóstico o de tratamiento. Es principalmente la absorción la que delimitada la denominada ventana terapéutica. Este rango de longitudes de onda, entre unos 600 y 1100 nm, representa la región espectral de menor atenuación en tejidos biológicos.

Una de las problemáticas diagnósticas más acuciantes en la práctica clínica tiene que ver con la biopsia convencional, referencia diagnóstica. Para tratar de evitar su carácter invasivo, así como las dilaciones diagnósticas, las técnicas ópticas podrían constituir una alternativa de interés. De esta forma, se contaría con técnicas no invasivas, sin contacto, no ionizantes y de alta resolución y contraste. El éxito en esta empresa llevaría a la llamada biopsia óptica, lo que podría revolucionar la práctica clínica.

En este caso particular del diagnóstico, existe una aplicación, actualmente no resuelta, que también podría beneficiarse de las ventajas de las técnicas ópticas. Se trata en particular de los sistemas de cirugía guiada, que precisan de una discriminación de tejidos antes de abordar los procedimientos correspondientes, habitualmente de corte. Además del hecho de lograr una intervención precisa, la discriminación de tipo de tejido permitiría evitar daños a tejidos adyacentes. El daño puede ser particularmente relevante si estos tejidos adyacentes son, por ejemplo, vasos sanguíneos o tejido nervioso.

Entre las técnicas ópticas que podrían contribuir a solucionar este problema se encuentran las técnicas espectroscópicas. Como se mencionó anteriormente, la radiación óptica que absorbe y esparce una muestra depende fuertemente de sus propiedades ópticas, principalmente de su coeficiente de absorción μ_a y de esparcimiento reducido μ_s' . En consecuencia, la información espectral de un tejido contiene datos diagnósticos de los tejidos biológicos. Numerosos estudios han demostrado la viabilidad de la técnica para determinar el estado de un tejido y proporcionar información sobre la morfología, funcionalidad o composición bioquímica de la muestra [2,3]. En ocasiones el contraste intrínseco conseguido con técnicas como la Espectroscopía de Reflectancia Difusa no es suficiente, y se hace preciso por lo tanto incluir alguna substancia extrínseca para incrementarlo. Entre los componentes exógenos más habituales están los fluoróforos, empleados con profusión en sistemas biológicos, así como clínicos. Substancias específicas podrían entonces servir como elementos distintivos en las aplicaciones mencionadas de cirugía guiada.

En este trabajo se analizan y aplican las técnicas mencionadas de Espectroscopía de Reflectancia Difusa, así como fluorescentes, con objeto de contribuir a la discriminación de tejidos biológicos, con aplicación en cirugía guiada. Para ello, la sección segunda contiene conceptos y condicionantes de Espectroscopía de Reflectancia Difusa, aplicada sobre tejido porcino ex vivo. La tercera parte se centra en técnicas de imagen por fluorescencia, con objeto de complementar o mejorar las características discriminativas. En la cuarta parte se presentan los resultados obtenidos, y la sección quinta contiene las conclusiones.

2. Espectroscopía de Reflectancia Difusa

En el análisis de Espectroscopía de Reflectancia Difusa, se llevaron a cabo montajes y medidas sobre tejido porcino ex vivo. El montaje óptico en volumen para espectroscopía de reflectancia se describe en otro lugar [4]. A grandes rasgos, el montaje incluye una fuente de luz blanca QTH de 250W con espectro entre 200 y 2400 nm, un espectrómetro con un rango de medida entre 220 y 1100nm y resolución de 0.5nm, así como un sistema de lentes y filtros. Los espectros se registran mediante una fibra óptica solarizada de diámetro 1mm. Las medidas se llevan a cabo con una orientación de 30°.

Los datos se toman sobre puntos de la muestra en una matriz 4x4, con 4 capturas en cada punto, con separación de cada punto aproximada de 6mm. Las muestras biológicas proceden de cerdos *Large White*. Tras su sacrificio se procede a la extracción inmediata de los tejidos. Los cerdos tienen una edad de 2-4 meses, y un peso de entre 20 y 25 kg. Después de la extracción por parte del especialista veterinario, las muestras se almacenan en soportes diseñados especialmente para acoplarse en el sistema de medida. Los tejidos se envuelven con gasas empapadas con cloruro de sodio (9mg/ml) y se almacenan en frío, hasta que las muestras son procesadas [4].

La discriminación de tejidos biológicos requiere de algorítmica semiautomática. Un algoritmo muy común para reducir las dimensiones de un problema es el análisis de componentes principales PCA (Principal Components Analysis). El análisis PCA transforma un número de variables posiblemente correlacionadas en un número de variables igual o menor, no correlacionadas (ortogonales) por medio de una proyección. Cada espectro almacenado tiene 1750 datos, que equivalen a datos capturados en un rango de 225.5nm a 1100.5nm, cada 0.5nm. Por medio de la transformación PCA, se hace una reducción de 1750 dimensiones a 2 dimensiones. Habitualmente, entre las dos primeras componentes contienen el 84% de la variancia total de los datos.

Aplicando sistemas de clasificación, se demuestra que la capacidad de discriminación de tejidos biológicos es significativa para varios de ellos, pero continúa siendo mejorable para el caso particular del tejido nervioso [4].

3. Espectroscopía de fluorescencia

La fluorescencia se emplea en aplicaciones biomédicas fundamentalmente para diagnóstico de tejidos biológicos [5,6]. Existen ciertas sustancias intrínsecas de los tejidos biológicos capaces de producir el efecto de la fluorescencia. En este caso el efecto se conoce con el nombre de autofluorescencia. En caso de que el contraste no sea suficiente, o bien no existan substancias fluorescentes, se utilizan fluoróforos extrínsecos. En la práctica médica es común emplear la segunda aproximación.

Dos fluoróforos extrínsecos aprobados para uso clínico son el azul de metileno y el 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.

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 (λ) o por la transmitancia T (λ) definidas en las ecuaciones 1 y 2 respectivamente [1].

$$A(\lambda) = \log\left(\frac{I_{\lambda}^{0}}{I_{\lambda}}\right) = -\log T(\lambda)$$
(1)

$$T(\lambda) = \frac{I_{\lambda}^{0}}{I_{\lambda}}$$
(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:

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) \cdot l \cdot c \tag{3}$$

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.

Con objeto de comprobar si es posible la discriminación fluorescente de tejido nervioso, se hace necesario llevar a cabo experimentos in vivo. De esta manera es posible realizar una primera evaluación de la viabilidad de la técnica.

4. Resultados y discusión

Estudios anteriores demuestran que algunas oxacinas presentan un comportamiento preferencial por el tejido nervioso. Para establecer la configuración del sistema, tal y como se comentaba anteriormente, necesario medir las características espectroscópicas del fluoróforo. Estas características dependen del soluto empleado, además de la concentración de fluoróforo. La concentración de fluoróforo altera la señal de intensidad total, que es directamente proporcional a la cantidad de moléculas, y también la absorción y emisión espectral, a medida que los enlaces químicos cambian con un número creciente de moléculas. Se emplearon dos solutos diferentes, uno para la aplicación tópica y otro para la inoculación intravascular. Los espectros de emisión se midieron mediante una configuración espectrométrica. La Figura 1 muestra un ejemplo de espectro de emisión de oxacina 10 µM en agua.



Figura 1. Espectro de absorción de oxacina 10 μ M en agua.

Se aplicaron soluciones de fluoróforo a ratas in vivo. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Cantabria. Se emplearon ratas Sprague Dawley en los experimentos. Todas ellas tuvieron al menos una semana de aclimatación en las instalaciones de Universidad hasta que alcanzaron un peso de la aproximadamente 150-200 gramos. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbitona (65 mg/kg). Las preparaciones de fluoróforo se aplicaron a ratas, incluida la administración tópica e intravascular. Se practicó cirugía abierta para exponer los nervios ciáticos, bilateralmente, en los tiempos de incubación predeterminados. Se construyó un sistema específico en función de las longitudes de onda de excitación y emisión. La configuración incluye un LED de alta potencia a 630 nm, filtros de excitación y emisión, una un dicroioa y una cámara CMOS.

Un ejemplo de los resultados obtenidos se muestra en la Figura 2.



Figura 2. Ejemplo de imagen con luz natural (izquierda) e imagen de fluorescencia (derecha) sobre nervio ciático de rata.

En esta figura es posible observar, por un lado, una de las imágenes del nervio ciático de rata con luz natural, una vez expuesto mediante cirugía. La aplicación del fluoróforo a la concentración establecida, y su observación por medio del montaje de fluorescencia, resulta en la imagen de la derecha. En ella se puede ver claramente la delimitación del nervio ciático, que contrasta ampliamente con respecto al resto de tejidos presentes, musculares, adiposos o conectivos.

5. Conclusiones

En este trabajo se analizan diferentes aproximaciones a la discriminación de tejidos mediante cirugía guiada, un problema clínico de la máxima relevancia. La consecución de técnicas fiables permitiría evitar en gran medida los daños a tejidos advacentes, que pueden afectar de forma crítica, por ejemplo, en el caso del tejido nervioso. Se han analizado la Espectroscopía de Reflectancia Difusa, como técnica intrínseca, y el uso de fluoróforos extrínsecos. La primera de las técnicas ha permitido la discriminación de varios tejidos, pero no así del tejido nervioso. La adecuada selección y preparado de fluoróforos de la familia de las oxacinas sobre ratas in vivo permite observar cómo se produce una acumulación selectiva en tejido nervioso. De esta forma, al obtener una imagen de fluorescencia, el contraste es claro en el tejido nervioso. En consecuencia, se observa que sería posible su uso potencial en la práctica clínica, a falta de estudios subsiguientes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i "Modificación mediante alta presión de las propiedades plasmónicas y luminiscentes de nanopartículas de metales y óxidos desnudas y recubiertas" (PGC2018-101464-B-I00), del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, cofinanciado con fondos FEDER y por la Fundación San Cándido.

Referencias

[1] Niemz MH. Laser-tissue interactions: fundamentals and applications. Chap. 2. Springer Science & Business Media, 2013.

[2] Koenig F, Larne R, Enquist H, McGovern FJ, Schomacker KT, Kollias N, Deutsch TF. Spectroscopic measurement of diffuse reflectance for enhanced detection of bladder carcinoma. Urology, vol 51, issue 2, 1998, pp 342-345.

[3] Zonios G, Perelman LT, Backman V, Manoharan R, Fitzmaurice M, Van Dam J, Feld MS. Diffuse reflectance spectroscopy of human adenomatous colon polyps in vivo. Applied Optics, vol 38, issue 31, 1999, pp 6628-6637.

[4] F. Fanjul-Vélez, L. Arévalo-Díaz and J. L. Arce-Diego, "Intra-class variability in diffuse reflectance spectroscopy: application to porcine adipose tissue," Biomedical Optics Express 9, 2297-2303 (2018).

[5] 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).

[6] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego JL. Superficial radially-resolved fluorescence and threedimensional photochemical time-dependent model for Photodynamic Therapy. *Optics Letters*, vol 39, 2014, 1845-1848 (ISSN: 1539-4794).

Comparative study of quantitative scales for the evaluation of treatment response in Hodgkin lymphoma

J.M. Quiles-Franquet¹, A.P. Seiffert¹, A.C. Hernández-Martínez², A. Gómez-Grande², E.J. Gómez^{1,3}, P. Sánchez-González^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España;

jose.quiles.franquet@alumnos.upm.es, {aseiffert, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España; anacristihm@hotmail.com, adolfogomez@gmail.com

³Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Abstract

Hodgkin lymphoma (HL) is a type of blood cancer that generally originates in the lymph nodes and can spread within the lymphatic system. HL is highly curable and treated usually by chemotherapy following the ABVD (Adrymacin, Bleomycin, Vinblastine and Dacarbazine) regime. The evaluation of the response to the treatment of the patients is performed by the visual analysis of interim and end-of-treatment ¹⁸Ffluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) images. The Deauville five-point scale is the internationally recommended tool to assess patient response. However, this scale is based on a visual analysis of PET-FDG images. Semiquantitative scales, called rPET and qPET that are based on the Standardized Uptake Value (SUV), have previously been proposed for a more objective classification of the cases. A graphical user interface is developed to manually select the lesions in PET images, process the images and automatically calculate the Deauville score based on the rPET and qPET scales. The algorithm is validated by analysing 9 cases of patients diagnosed with HL. The obtained Deauville scores are compared to the evaluation of the images by two physicians specialized in nuclear medicine. In 94.44% and 100% of the cases that are classified with the rPET and qPET scales, respectively, the result matches the visual analysis. The results obtained with both parameters could potentially indicate their viability in assessing the response to treatment in HL patients.

1. Introduction

Lymphomas are a group of blood cancers that develop from lymphocytes. They generally start in a lymph node and can spread within the lymphatic system and adjacent organs. [1]. Hodgkin lymphoma (HL) is a type of lymphoma characterized by malignant Hodgkin and Reed-Sternberg (HRS) cells. It represents up to 10% of all newly diagnosed lymphomas [2]. Most patients are diagnosed between 15 and 30 years of age, followed by another peak in adults aged \geq 55 [3].

By far, the most characteristic presentation of a possible HL disease is the enlargement of the lymph nodes. The most common location for these enlargements is within the neck and supraclavicular region. The concrete location of the enlargements can be detected by medical imaging. Even though in an advanced stage HL can involve any organ of the body, the liver, spleen, lungs, pleura and bone marrow are the most commonly affected [4].

Within the past decades, the management of HL has improved notoriously, making it curable in 80% of cases [5]. The remaining 20% of patients relapse on the disease. This chance of relapse increases from 10% in early stages [6] to 30% in advanced stages [7].

The treatment for Hodgkin lymphoma relies primarily on chemotherapy and radiotherapy and depends on different factors such as the stage or extent of the disease, the type of HL or patient-related variables like the age or its overall health [4]. Generally, HL is treated following the ABVD (Adrymacin, Bleomycin, Vinblastine and Dacarbazine) chemotherapy regime [5]. Each cycle of ABVD is given usually over 4 weeks and patients are treated with 2-4 or 4-6 cycles of chemotherapy [8].

Medical imaging by ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG) PET/CT is the preferred modality for treatment assessment [9]. FDG-PET/CT is the gold standard in staging and end of treatment remission assessment in patients with Hodgkin lymphoma. However, literature suggests that the use of an early PET during the first therapy line, to evaluate chemosensitivity, is a better approach than just to assess response at end of treatment [10]. This first PET image, denominated interim PET (iPET), is acquired after two or three cycles of chemotherapy. Moreover, a final PET scan (fPET) at the end of treatment is performed [9].

To assess the response to the provided treatment, the Deauville five-point scale (see Table 1) is recommended for response assessment by international guidelines and is commonly used in clinical practice [4]. The Deauville score (DS) is established by visual inspection of the images, comparing the lesion uptake of the used radiotracer to that of reference regions, which are the mediastinum and the liver. Depending on the score, treatment could present changes to ensure a correct regression of the disease. If the DS is equal or less than 3, there has been a complete response and the case is "negative". Opposite to this, DS higher than 3 could suggest a partial response, stability of the disease or a progression of the disease depending on the specific case, resulting in a "positive" case [11]. Deauville grading is used on interim and end of treatment PET scans. It determines the FDG avidity of a HL tumour mass as seen on FDG PET/CT. This FDG uptake is graded in relation to reference regions, the liver

and the mediastinum, which have proven clinical suitability specially for HL [11].

DS	Definition	Response
1	No uptake	Complete Response
2	Uptake ≤ mediastinum	Complete Response
3	Uptake > mediastinum \leq liver	Complete Response
4	Moderately increased uptake	Partial Response, Stable
	compared to the liver	Disease, Progressive
		Disease
5	Markedly increased uptake com-	Partial Response, Stable
	pared to the liver and/or new	Disease, Progressive
	lesions	Disease
Х	New areas of uptake unlikely to	N/A
	be related to lymphoma	

Table 1: Deauville Five-Point Scale [11].

However, when the uptake of the lesion is similar to that of the reference region, it might be difficult to safely determine the DS. A semi-quantitative scale based on the Standardized Uptake Value (SUV) of the lesion and a reference region can be used to obtain a more objective result [12].

The goal of this work is to design and implement an algorithm to quantify the treatment response on Hodgkin lymphoma based on the Deauville five-point scale. The cases are classified in "negative" (DS 1, 2 and 3) or "positive (DS 4 and 5). The previously defined semiquantitative rPET [13] and qPET [14] scales are used to determine the DS, Lastly, the quantitative results are compared to the visual analysis. This way. the usefulness of the quantitative classification compared to the qualitative assessment by the visual analysis is evaluated.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

A sample of 9 patients is retrospectively selected to be analysed by the algorithm. All patients were diagnosed with and treated for HL at the *Hospital Universitario 12 de Octubre*, Madrid, Spain. The mean \pm standard deviation age for the patients is 50 \pm 17 years, 4 of whom are female and 5 are male. The corresponding iPET and fPET images are provided by the department of nuclear medicine of said hospital.

Images were acquired with a Siemens Biograph 6 True-Point scanner (Siemens AG, Munich, Germany). Patients fasted for 6 hours before intravenous FDG administration. Radiopharmaceutical dose was 332 ± 31 MBq according to the patients' body weight. PET images were reconstructed using a point spread function (PSF; 3 iterations and 21 subsets). The image acquisition protocol included a CT scan used for attenuation correction.

The images are processed and analysed using MATLAB version R2018b (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, USA). The algorithm for the automatic calculation of the DS and classification is also implemented in MATLAB.

2.2. Methods

The GUI workflow is shown in Figure 1.



Figure 1: GUI workflow.

Once the application is launched, the user needs to load a new study. PET images are displayed in the three image planes: Coronal (frontal plane), Sagittal (longitudinal plane) and Axial (transverse plane). To perform the 3D volume of interest (VOI) extraction, it is necessary to extract both the VOI of the lesion and of the reference region. A total of five interactive rectangles are included in the GUI, three for the lesion and two for the reference VOI. The final VOIs are reconstructed based on the selected regions by extracting a new three-dimensional image matrix. Finally, SUV maps are calculated of these VOIs based on the equation defined in [15].

To calculate the DS based on the extracted SUVs two different parameters are used: (1) rPET [13] and (2) qPET [14].

rPET: The rPET is based on the maximum SUV of the lesion (SUV_{max}). SUV_{max} is easily accessible in clinical software, low affected by partial volume effects and has good intrareader reproducibility [9]. The rPET parameter is defined as the ratio between SUV_{max} of the lesion and the SUV_{max} of the liver. rPET is extended to a continuous scale by using 1.14 as the cut-off value between positive and negative DS [13]. The other values are defined based on clinical guidelines recommendations [16]. The whole scale is shown in *Table 2*.

DS	rPET
1	rPET = 0
2	rPET < 0.9
3	0.9 < rPET < 1.14
4	1.14 < rPET < 2
5	rPET > 2

Table 2: rPET to Deauville Five-Point Scale translation [13].

• *qPET*: As an alternative parameter to SUV_{max}, a reliable possibility for FDG avid tumors shows to be SUV_{peak} [17]. The criteria introduced in PERCIST (PET response criteria in solid tumors) suggest the use of SUV_{peak} over SUV_{max} for the lesion [18]. Whereas the SUV_{peak} is often defined as the SUV in a 1cm³ sphere, the average intensity over the SUV_{max} and the three hottest adjacent voxels is calculated [14]. Moreover, qPET utilizes the mean of the liver VOI to calculate the ratio (SUV_{peak}/SUV_{mean,liver}). The qPET scale is shown in *Table 3*.

DS	qPET
1	qPET = 0
2	qPET < 0.95
3	0.95 < qPET < 1.3
4	1.3 < qPET < 2
5	qPET > 2

Table 3: qPET to Deauville Five-Point Scale translation [14].

To validate the results of the algorithm, two physicians specialized in nuclear medicine visually evaluated all patients. The result is indicated by the DS. The overall accuracy of the binary classification of the algorithm is determined, with the visual analysis being the gold standard. The case is considered correctly classified by the algorithm if it matches the evaluation of one of the physicians.

3. Results and Discussion

The final GUI is shown in *Figure 2*. It includes a series of components to meet the workflow defined in the methods. Concretely, these components, which are numbered in the figure, are:

- (1) **Pop-up menu** to select if either rPET or qPET should be calculated.
- (2) Push buttons to save the reference and lesion VOIs, to calculate the DS and to classify the case.
- (3) Text display boxes to display quantitative parameters and the result.
- (4) Menu tab to load a new study or to save the results.
- (5) Image axes to visualise the three planes of the PET image.
- (6) Slider info text to display the current image slice.
- (7) Interactive rectangles to select the VOIs.
- (8) Crosshair to indicate the current position in the volume (deactivated in *Figure 2*).

All 9 cases of the sample are processed using the developed GUI (see *Figure 2*). Both iPET and fPET images are analysed and rPET, qPET values and the DS are obtained.

The results for all patients and images are shown in *Table* 4. Overall, the classification into "negative" and "positive" cases overlaps in both parameters. However, rPET tends to result in a DS of 1 point lower than qPET.

Patient	iPET		fPET	
	rPET (DS)	qPET (DS)	rPET (DS)	qPET (DS)
1	0.98 (3)	1.52 (4)	0.64 (2)	0.98 (3)
2	0.83 (2)	1.49 (4)	0.38 (2)	0.74 (2)
3	0.87 (2)	1.19(3)	1.15 (4)	2.13 (5)
4	0.54 (2)	0.77(2)	0.50(2)	0.82(2)
5	1.73 (4)	2.70 (5)	0.95 (3)	1.26 (3)
6	1.07 (3)	1.26 (3)	0.83 (2)	1.11 (3)
7	1.55 (4)	2.05 (5)	5.19 (5)	7.23 (5)
8	0.39 (2)	0.54 (2)	0.61 (2)	1.12 (3)
9	1.32 (4)	1.98 (4)	0.64 (2)	1.23 (3)

Table 4: Quantitative results of the sample.

The visually obtained Deauville scores by the physicians are shown in *Table 5*. Generally, the inter-reader agreement is high. However, in two cases the physicians' evaluation do not show an overlap. In patient 2, the DS of the iPET does not match, being 3 and 4, respectively. This suggests that the differentiation between "negative" and "positive" in cases that present a similar uptake to the liver is more difficult to determine. On the other hand, the fPET DS for patient 3 are 4 and 5. Given that both DS indicate a positive case, this mismatch does not affect the results of this work.

Patient	iPET DS		fPET DS	
	Physician 1	Physician 2	Physician 1	Physician 2
1	4	4	2	2
2	3	4	2	2
3	3	3	4	5
4	2	2	2	2
5	4	4	3	3
6	3	3	2	2
7	4	4	5	5
8	2	2	2	2
9	4	4	3	3

Table 5: Deauville scores determined by two physicians.



Figure 2: Example of a freshly loaded PET study showing the initial interactive rectangles. The green rectangles select the VOI of the lesion and the yellow rectangles mark the reference VOI. (1): Pop-up menu, (2): push buttons, (3): text display boxes, (4): menu tab, (5): image axes, (6): slider info text, (7): interactive rectangles (green for the lesion and yellow for the reference VOI).

Finally, the concordance between each scale and the visual DS (positive/negative) is shown in Table 6. While an overall 94.44% of cases match the visually obtained DS when using the rPET scale, the qPET scale classifies 100% of the cases like the visual analysis. 88.89% (8 of 9) of the cases match the visual analysis when classifying only the iPET images using the rPET scale. The exception is patient 1, who is falsely classified as "negative" by the algorithm based on rPET on the iPET image. However, both readers classify it as "positive". In this case, the precise DS is 3, whereas in the visual analysis by the physicians it has a DS of 4. Moreover, it is noteworthy that in the case of patient 2, the binary classification of the iPET image matches reader 1 for rPET and reader 2 for qPET. Nonetheless, an overlap with only one reader is considered to be enough to classify the case correctly.

	iPET	fPET	Overall agreement
rPET	88.89%	100%	94.44%
qPET	100%	100%	100%

 Table 6: Percentage of cases classified by the quantitative scales that match the visual analysis.

Even though the agreement between quantitative and visual DS is high, the small sample size of only 9 patients needs to be pointed out. However, by using not only the iPET but also the fPET images we doubled the number of analysed images. Moreover, the sample only consists of patients treated for HL. The Deauville five-point scale is used as a tool to assess the response to treatment of lymphomas of high FDG affinity. Thus, the comparison between the rPET and qPET scales and visual analysis could be expanded to non-Hodgkin lymphoma patients.

4. Conclusions

The evaluation of the treatment response in patients treated for HL is performed by the visual analysis of PET-FDG images using the internationally recommended Deauville five-point scale. An algorithm to quantitatively assess the response to treatment in HL patients based on the DS is presented. The semi-quantitative scales are based on the rPET and qPET parameters that were presented previously by other groups [13, 14]. Both parameters show very high concordance in the classification of treatment response when compared to the visual analysis.

Acknowledgements

This work was supported partly by an FPU Fellowship (Beca de Formación de Profesorado Universitario) from the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (FPU16/06487).

References

- [1] Swerdlow SH *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, vol 127, no 20, 2016, pp 2375–90.
- [2] Shanbhag S, Ambinder RF. Hodgkin lymphoma: A review and update on recent progress. *CA: a cancer journal for clinicians*, vol 68, no 2, 2018, pp 116–132, (ISSN: 1542-4863).
- [3] Hayat MJ *et al.* Cancer Statistics, Trends, and Multiple Primary Cancer Analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *The*

Oncologist, vol 12, no 1, 2007, pp 20–37, (ISSN: 1083-7159).

- [4] Hoppe RT *et al.* Hodgkin Lymphoma Version 1.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal* of the National Comprehensive Cancer Network, vol 15, no 5, 2017, pp 608–638, (ISSN: 1540-1405).
- [5] Johnson P et al. Adapted Treatment Guided by Interim PET-CT Scan in Advanced Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine*, vol 374, no 25, 2016, pp 2419–2429, (ISSN: 0028-4793).
- [6] Engert A *et al.* Reduced Treatment Intensity in Patients with Early-Stage Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine*, vol 363, no 7, 2010, pp 640–652, (ISSN: 0028-4793).
- [7] Engert A *et al.* Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, vol 27, no 27, 2009, pp 4548–54, (ISSN: 1527-7755).
- [8] Hoppe RT et al. NCCN Guidelines Insights: Hodgkin Lymphoma, Version 1.2018. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, vol 16, no 3, 2018, pp 245–254.
- [9] Kanoun S *et al.* [18F]FDG-PET/CT in Hodgkin Lymphoma: Current Usefulness and Perspectives. *Cancers*, vol 10, no 5, 2018, (ISSN: 2072-6694).
- [10] Subocz E et al. The role of FDG-PET in Hodgkin lymphoma. Contemporary oncology (Poznan, Poland), vol 21, no 2, 2017, pp 104–114, (ISSN: 1428-2526).
- [11] Barrington SF, Kluge R. FDG PET for therapy monitoring in Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, vol 44, no Suppl 1, 2017, pp 97–110, (ISSN: 1619-7089).
- [12] Meignan M et al. Imaging in Lymphoma: The Key Role of Fluorodeoxyglucose-Positron Emission Tomography. *The Oncologist*, vol 20, no 8, 2015, pp 890–895, (ISSN: 1083-7159).
- [13] Annunziata S et al. Interim FDG-PET/CT in Hodgkin lymphoma: the prognostic role of the ratio between target lesion and liver SUVmax (rPET). Annals of Nuclear Medicine, vol 30, no 8, 2016, pp 588–592, (ISSN: 0914-7187).
- [14] Hasenclever D et al. qPET a quantitative extension of the Deauville scale to assess response in interim FDG-PET scans in lymphoma. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, vol 41, no 7, 2014, pp 1301–1308, (ISSN: 1619-7070).
- [15] Kinahan PE, Fletcher JW. Positron emission tomographycomputed tomography standardized uptake values in clinical practice and assessing response to therapy. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, vol 31, no 6, 2010, pp 496–505, (ISSN: 0887-2171).
- [16] Barrington SF et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology, vol 32, no 27, 2014, pp 3048–58, (ISSN: 1527-7755).
- [17] Sher A et al. For avid glucose tumors, the SUV peak is the most reliable parameter for [18F]FDG-PET/CT quantification, regardless of acquisition time. *EJNMMI Research*, vol 6, no 1, 2016, p 21, (ISSN: 2191-219X).
- [18] O JH *et al.* Practical PERCIST: A Simplified Guide to PET Response Criteria in Solid Tumors 1.0. *Radiology*, vol 280, no 2, 2016, pp 576–84, (ISSN: 1527-1315).

Clasificación de patrones de imágenes dermatoscópicas mediante textones ICA

S. Hornillo Mellado¹, M.C. Serrano Gotarredona¹, B. Acha Piñero¹

¹ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España. {susanah,cserrano,bacha}@us.es

Resumen

La detección y clasificación de patrones dermatoscópicos globales resulta crucial en el proceso de diagnóstico de melanomas. En este trabajo nos centramos en la detección y clasificación de patrones reticulares, globulares, homogéneos y empedrados, habitualmente presentes en lesiones melanocíticas, usando un enfoque estadístico. En particular, las texturas asociadas a estos patrones se modelan mediante la distribución de probabilidad conjunta de las respuestas agrupadas de un determinado banco de filtros. Como resultado, obtenemos un diccionario de características fundamentales o textones que representan las texturas analizadas. En este artículo proponemos el uso de un banco filtros ICA (Independent Component Analysis) para la obtención del diccionario de textones, y que denominaremos textones ICA. En tratamiento de señales, estos filtros son utilizados para la extracción de componentes independientes. Para comprobar su rendimiento, hemos trabajado con un total de 225 imágenes representadas en escala de grises obtenidas del "Interactive Atlas of Dermoscopy". Comparando los resultados con los obtenidos con los bancos de filtros más utilizados tradicionalmente (Leung y Malik (LM), Root Filter Set (RFS), respuesta máxima (MR8) y filtros de Schmid (S)), obtenemos una tasa de clasificación correcta notablemente superior en la mayoría de los casos

1. Introducción

El diagnóstico precoz es fundamental para el eficaz tratamiento de melanomas. La dermatoscopia (o microscopía de epiluminiscencia) es un método no invasivo que ha demostrado ser muy útil para el reconocimiento temprano del melanoma maligno [1], aunque su éxito depende en gran medida de la experiencia del dermatólogo. Los sistemas de diagnóstico asistido por ordenador (CAD) serían de gran ayuda para dermatólogos menos experimentados o, en cualquier caso, para facilitar las primeras fases del diagnóstico, en las que resulta fundamental la detección y clasificación de patrones globales presentes en las lesiones, como son los siguientes [2]:

- Patrón reticular o patrón de red de pigmentos. Es la característica global más común en lesiones melanocíticas.
- Patrón globular. Caracteriza por la presencia de numerosas estructuras globulares de diversos tamaños.

- Patrón empedrado. Se puede considerar como un patrón globular caracterizado por glóbulos grandes y apretados entre sí, lo que les da una apariencia de adoquines.
- Patrón homogéneo. Caracterizado por una pigmentación difusa, que puede ser marrón, gris azulada, gris oscura o rojiza, y la ausencia de distintivos locales.
- Patrón paralelo. Se encuentra en las palmas de las manos y las plantas de los pies debido a la anatomía particular de estas áreas.

En la Fig. 1 se muestra un ejemplo de lesiones melanocíticas caracterizadas por cada uno de estos patrones.

El objetivo de este artículo es clasificar entre patrones reticulares, globulares, empedrados, homogéneos y paralelos usando un enfoque estadístico, en el cual cada clase se modela mediante distribuciones de probabilidad que miden la frecuencia con la que una serie de características fundamentales o textones están presentes en dichos patrones. El concepto de textón fue introducido por primera vez por Julesz [3] y hace referencia a las características fundamentales que están presentes en las imágenes naturales y que permiten al sistema visual humano discriminar entre texturas. Posteriormente, este concepto se extrapoló al tratamiento digital de imágenes, donde la extracción de textones se realiza mediante un banco de filtros [4] con propiedades invariantes a la rotación [5-7]. Este enfoque ha sido utilizado recientemente para la detección y clasificación de patrones globales [8,9] y color [10] en imágenes dermatoscópicas.

Siguiendo este mismo enfoque, en este trabajo proponemos el uso de un banco de filtros ICA (*Independent Component Analysis*) para la extracción de textones. Los filtros ICA permiten extraer las componentes independientes presentes en una imagen y su estructura guarda conexión con el proceso de discriminación que lleva a cabo el sistema visual humano [11,12]. Es esta propiedad la que nos ha llevado a elegirlos para elaborar un banco de filtros adaptado a las características de los patrones a analizar. Los resultados demuestran una tasa de acierto superior a la obtenida con los filtros tradicionales: Leung y Malik (LM) [5], *Root Filter Set* (RFS) [6], respuesta máxima (MR8) [6] y filtros de Schmid (S) [7].

El artículo se organiza como sigue: en la sección 2 describimos el algoritmo general para la extracción de textones de imágenes naturales mediante bancos de filtros. La sección 3 está dedicada al proceso de la obtención de los filtros ICA. En la sección 4 presentamos las tasas de clasificación correcta de los cinco patrones globales comparadas con las obtenidas con los filtros tradicionales LM, RFS, MR8 y S. Los experimentos se han llevado a cabo con un total de 225 imágenes de tamaño 80 × 80, representadas en escala de grises y extraídas del *Interactive Atlas of Dermoscopy* [13].



Figura 1. Ejemplo de patrones característicos de lesiones melanocíticas incluidos en el Interactive Atlas of Dermoscopy [13].

2. Clasificación de imágenes mediante textones

Como hemos mencionado en la sección anterior, los textones hacen referencia a aquellas características fundamentales que permiten discriminar entre las texturas de una imagen. Esta idea fue inicialmente propuesta por Julesz, que identificó los textones con formas básicas y terminaciones líneas, conexiones como [3]. Posteriormente, el concepto de textón evolucionó hacia una definición basada en la agrupación de respuestas de bancos de filtros [4-7]. De esta forma, todas las imágenes de una determinada clase se hacen pasar por un banco de filtros para obtener unas respuestas que posteriormente se agrupan en torno a unos centroides (por ejemplo, con el algoritmo k-means), y que son considerados los textones representativos de dicha clase (ver Fig. 2). Más específicamente, tras la fase de filtrado, las respuestas se concatenan para obtener los vectores de características de cada imagen, de tal forma que cada píxel x tiene asociado un vector $\mathbf{v}(x)$ con tantos elementos como filtros. Son estos vectores de características los que se agrupan para obtener los textones [14]. El conjunto de textones suele denominarse diccionario o BoW (Bag of Words), y se emplea para generar los modelos probabilísticos (en

forma de histogramas de frecuencia) que caracterizan las imágenes de cada clase. Para obtener dichos modelos, los vectores de características de cada imagen se comparan con los textones que componen el diccionario y se anota el más cercano a cada vector, generando un histograma de frecuencia que es único para cada imagen pero que guarda relación con los histogramas de las imágenes de la misma clase.

Para clasificar una imagen de una determinada clase que es, a priori, desconocida, se calcula el modelo probabilístico de dicha imagen siguiendo el mismo proceso anterior y se compara con los modelos que ya se han obtenido. La clase se decide a partir del histograma que maximice la correlación entre modelos.

3. Obtención de los filtros ICA

El objetivo del Análisis en Componentes Independientes (*Independent Component Analysis*, ICA) es estimar las componentes independientes que subyacen en un conjunto de variables observadas [15]. Sea $X (M \times L)$ la matriz de observaciones que contiene, por filas, M variables observadas de L muestras cada una. Supongamos que estas variables han sido obtenidas a partir de la mezcla lineal de un conjunto de N variables estadísticamente independientes entre sí, es decir:

$\mathbf{X} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{S}$

donde la matriz **S** $(N \times L)$ contiene las componentes independientes y la matriz **A** $(M \times N)$ es la matriz de mezclas y es desconocida. El objetivo de ICA es encontrar la matriz **B** $(N \times M)$ tal que:

$\mathbf{S} = \mathbf{B} \cdot \mathbf{X}$

La matriz **B** (matriz de separación) puede obtenerse maximizando la "no-gaussianeidad" de las observaciones en base a su negentropía o su kurtosis [15], minimizando su información mutua o también mediante una estimación de máxima verosimilitud (*maximum likelihood*). En este trabajo hemos empleado el algoritmo FastICA, cuyo principio es maximizar la "no-gaussianeidad" de las observaciones, por ser un algoritmo simple y de rápida convergencia [16].

Cuando aplicamos ICA a imágenes, la matriz de observaciones \mathbf{X} se compone a partir de fragmentos de n \times *n* píxeles dispuestos en forma de columnas, de tal forma que $M = n^2$ (ver Fig. 3). Según el modelo ICA, cada fragmento de la imagen se obtiene a partir de la suma ponderada de una serie de imágenes base (columnas de A). Los coeficientes de ponderación son estadísticamente independientes entre sí y estarían recogidos en la matriz S. En este caso, el producto de la matriz de separación por la matriz de observaciones representa un filtrado en dos dimensiones. Es por esto que a las filas de la matriz B se le denominan filtros ICA, la mayoría de los cuales realizan un filtrado paso alto (realce del contraste). Este modelo ha sido usado frecuentemente en análisis de imágenes, por su conexión con el procesado que realiza el sistema visual humano [11,12].



Figura 2. Proceso de creación del diccionario de textones y su uso para la clasifiación de patrones.



Figura 3. Obtención de la matriz de observaciones a partir de imágenes de entrenamiento.

4. Resultados

Todos los experimentos se han llevado a cabo con imágenes del *Interactive Atlas of Dermoscopy* [13]. Hemos seleccionado un total de 225 imágenes de 80 × 80 píxeles correspondientes a patrones reticulares, globulares, empedrados, homogéneos y paralelos. Las imágenes fueron convertidas a escala de grises para los experimentos. En la Fig 4. se muestra un ejemplo de las imágenes utilizadas.



Figura 4. Muestras de imágenes dermatoscópicas (80 × 80) correspondientes a patrones (a) reticular, (b) globular, (c) empedrado, (d) paralelo y (e) homogéneo.

Las imágenes se han tomado libres de artefactos como pelos o burbujas debidas al fluido empleado en la dermatoscopia. Para la agrupación de vectores de características (*clustering*) hemos empleado el algoritmo *k-means*.

Todos los filtros utilizados han sido normalizados para tener norma L1 unitaria. Por su parte, los vectores de características $\mathbf{v}(x)$ se normalizan siguiendo la ley de Weber [5,7]:

$$\mathbf{v}(x) \leftarrow \mathbf{v}(x) (\log(1 + L_2(x)/0.03))/L_2(x)$$

donde $L_2(x) = ||\mathbf{v}(x)||_2$.

Por cada clase de patrón empleamos 30 imágenes para la fase de entrenamiento y 15 para la fase de test. Las imágenes de entrenamiento son también empleadas para la generación de los filtros ICA de tamaño 10×10 . Este tamaño de filtros es el que nos ha proporcionado los mejores resultados. En la Fig. 5 se muestran los filtros ICA empleados en los experimentos. Vemos que la mayoría son claramente filtros paso alto.

El diccionario se ha creado empleando 60 textones por cada clase. Hemos realizado un total de 5 pruebas con cada banco de filtros, en cada una de las cuales las imágenes de entrenamiento y de test son elegidas aleatoriamente.

En la Fig. 6 mostramos los resultados de la clasificación con el banco de filtros ICA comparados con los obtenidos con otros bancos de filtros tradicionales. La menor tasa de acierto la encontramos en los patrones globular y empedrado, debido a la gran similitud entre ambos. Comparando los resultados obtenidos con los filtros ICA con los presentados en [8], observamos que son comparables a las mejores tasas de clasificación presentadas en dicho trabajo, teniendo en cuenta, además, que la clasificación se llevó a cabo en el espacio de color L*a*b*, en lugar de en escala de grises, como es nuestro caso.



Figura 5. Espectro de frecuencia de los filtros ICA *utilizados.*



Figura 6. Porcentajes de clasificación correcta obtenidos con los distintos bancos de filtros.

5. Conclusiones

En este trabajo hemos presentado los resultados obtenidos al utilizar un banco de filtros ICA para clasificar patrones globales presentes en imágenes dermatoscópicas, concretamente patrones reticulares, globulares, empedrados, paralelos y homogéneos. Hemos trabajado con un total de 225 imágenes en escala de grises de 80 \times 80 píxeles extraídas del Interactive atlas of dermoscopy, de las cuales 150 se emplearon en la fase de entrenamiento y 75 en la fase de test (30 y 15 por cada clase, respectivamente). Los experimentos muestran una tasa de acierto superior a los obtenidos con otros bancos de filtros tradicionales en casi todos los casos, siendo comparables incluso con los obtenidos por otros autores que han empleado el espacio de color L*a*b* para la clasificación. La mejor tasa de acierto obtenida ha sido para el patrón reticular (94.67%) y la peor para los patrones globular y empedrado, debido al gran parecido entre ambos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del Proyecto I+D+i DPI2016-81103-R (Plan Estatal 2013-2016).

Referencias

[1] Vestergaard ME, Macaskill P, Holt PE, Menzies SW, Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: A meta-analysis of studies performed in a clinical setting, Brit. J. Dermatology, vol. 159, no. 3, pp. 669–676, 2008 (ISSN 0007-0963).

- [2] Braun R, Rabinovitz H, et al, *Dermoscopy of pigmented skin lesions*, J Am Acad Dermatol 52(1), pp. 109–121, 2005 (ISSN 0190-9622).
- [3] Julesz B. Textons, the elements of texture perception, and their interactions. Nature, vol. 290, 1981, pp. 91-97 (ISSN 1476-4687).
- [4] Dana KJ, Medioni G, Dickinson S. Computational Texture and Patterns. From Textons to Deep Learning. Morgan & Claypool, 2018 (ISBN 978-1-681-73012-7).
- [5] Leung T, Malik J. Representing and Recognizing the Visual Appeareance of Materials using Three-dimensional Textons. International Journal of Computer Vision, vol. 43, no. 1, 2001, pp. 29-44 (ISSN 1573-1405).
- [6] Schmid C. Constructing models for content-based image retrieval. Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, vol. 2, 2001, pp. 39-45 (ISBN 0-7695-1272-0).
- [7] Varma M, Zisserman A. A Statistical Approach to Texture Classification from Single Images. International Journal of Computer Vision, vol. 62, no. 1-2, 2005, pp. 61-81 (ISSN 1573-1405).
- [8] Sadeghi M, Lee T, McLean D, Harvey L, Atkins M. Global Pattern Analysis and Classification of Dermoscopic Images Using Textons, Progress in Biomedical Optics and Imaging. Proceedings of SPIE, vol. 8314, 2012 (ISSN 1996-756X).
- [9] Li Y, Xie F, Jiang Z, Meng R. Pattern Classification for Dermoscopic Images Based on Structure Textons and Bagof-Features Model. Zhang YJ. (eds) Image and Graphics. ICIG 2015. Lecture Notes in Computer Science, vol 9219. Springer, Cham (ISBN 978-3-319-21969-1).
- [10] Saez A, Acha B, Serrano A, Serrano C, Statistical detection of colors in dermoscopic images with a texton-based estimation of probabilities, IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics, vol. 23, no. 2, pp. 560-569, March 2019 (ISSN 2168-2208).
- [11] Hyvärinen A, Hurri J, Hoyer PO. Natural Image Statistics. A Probabilistic Approach to Early Computational Vision. Springer. 2009 (ISBN 978-1-84882-491-1).
- [12] Hornillo S, Clemente R, Puntonet CG, Acha JI. On the Connection Between the Human Visual System and Independent Component Analysis. Lecture Notes in Computer Science. 2005, pp. 594-603 (ISBN 978-3-540-31673-2).
- [13] Argenziano G, Soyer H, et al., Interactive atlas of dermoscopy, EDRA-Medical Publishing and New Media, Milan, 2000 (ISBN 88-864-5730-8).
- [14] Varma M, Zisserman A. A statistical approach to material classification using image patch exemplars. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, vol. 31, no. 11, 2009, pp. 2032-2047 (ISSN 1939-3539).
- [15] Hyvärinen A, Oja E, Independent Component Analysis: Algorithms and Application, Neural Networks, vol. 13, no. 4-5, pp. 411-430. May 2000 (ISSN 0893-6080).
- [16] Hyvärinen A. Fast and Robust Fixed-Point Algorithms for Independent Component Analysis. IEEE Transactions on Neural Networks 10(3):626-634, 1999 (ISSN 1941-0093).

Evaluation of visual prognosis in patients by extracting and processing volumetric information from macular OCT images

D. Capellán Martín¹, MJ. Crespo Carballes², ME. Hernando Pérez¹

¹ Department of Photonics Technology and Bioengineering (TFB), Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Madrid, Spain, daniel.capellan.martin@alumnos.upm.es, mariaelena.hernando@upm.es

² Ophthalmology service, University Hospital Infanta Leonor, Madrid, Spain, mcrespoc@salud.madrid.org

Abstract

Retinal disorders causing visual impairment are present with high incidence in current world population. Identifying the pathology and working on an objective diagnosis is a key task in order to provide an accurate treatment for patients affected by any ocular disease. Support given by technical solutions, such as state-of-the-art biomedical imaging techniques and softwarebased analysis tools suppose a key factor that aids ophthalmologists' daily routine. In this work, a computer-based tool capable of segmenting and extracting volumetric information from macular Optical Coherence Tomography images of patients presenting some types of visual impairment has been developed. A preliminary clinical study has been accomplished, with results showing an improvement in visual acuity and retinal thickness after vitrectomy and membrane peeling in patients with pathology of epiretinal membrane.

1. Motivation

The World Health Organization estimates that around 1.3 billion people live with some type of visual impairment in the world [1]. This means that approximately 17% of the world's population has some type of visual impairment. Some pathologies that can cause blindness are age-related macular degeneration (AMD), cataracts, glaucoma, macular hole and diabetic retinopathy, among others [1]. Many of these pathologies affect the retina, especially the macula, an area of high importance at ocular level, since it has a high number of photoreceptors, being the area with the highest visual acuity or resolution [2]. Some of these pathologies cause significant variations in thickness, distribution and, therefore, volume of the retinal layers that compose the macular structure, as well as distortion of these sensitive components. Quantifying these variations through the image segmentation of the retinal layers in Optical Coherence Tomography (OCT) images before and after surgery may reassure the effectiveness of therapies, as the patient ends with a higher visual capacity due to the improvement of the retinal layers' arrangement.

The present work focuses on epiretinal membranes (ERM), an important type of ocular pathology that mainly affects the macula and is characterized by high distortion in retinal layers. People who suffer from ERM are subjected to different forms of visual impairment, such as micropsia (diminished visual perception of image size), macropsia perception of (augmented visual image size). metamorphopsia (visual distortion), monocular diplopia, among others, leading to visual acuity loss and, therefore, significant loss of vision [3-5]. ERM present a higher prevalence in elder people, especially after reaching 50 years of age [3]. A surgical process which consists of a

vitrectomy and peeling of the ERM can diminish the severity of the symptoms and improve acuity in 75% or more of cases [6]. A recent study demonstrated that the thickness and volume of the inner retina layer decreased significantly after vitrectomy for ERM and internal limiting membrane peeling. However, there was no significant change in thickness and volume of the outer retinal layers after surgery [7]. In ERM imaging, the segmentation process entails high complexity tasks mainly due to high distortion in retinal layers. Complexity also increases due to the high age of the affected patients, which conduces to a higher probability of suffering from cataracts, impacting on image quality, thereby making it challenging to obtain accurate results. Indeed, the segmentation and extraction of characteristics of different retinal components from OCT images is one of the most complex tasks, but at the same time the most required in the state of the art [8].

This work proposes objective distortion metrics of retinal layers to find evidences about the relationship between visual prognosis and the recovery of retinal structures after surgical interventions for ERM removal.

2. Methods

2.1. Acquiring images: TOPCON 3D OCT-2000

The equipment used to obtain macular OCT images is the TOPCON 3D OCT 2000 tomograph, system, available at the Ophthalmology service of the University Hospital Infanta Leonor of Madrid. This tomograph model includes a high-resolution colour retinograph and incorporates features in terms of OCT image quality that lead to low speckle noise acquisitions and, therefore, better processable and versatile images. The OCT studies are exported to DICOM files with volumetric organization (3D stacks of 128 images each, 512 x 885 pixels per image), allowing the analysis of 3D images, being able to obtain spatial information and general study data.

2.2. Macular OCT image processing

The performed methodology for macular OCT image processing is summarized in Figure 1.

STEP 1: The image preprocessing is one of the most important parts of the image processing procedure [8]. In the case of the present work, preprocessing consists of a denoising algorithm, whose objective is to reduce speckle noise, followed by an image flattening algorithm, whose aim is to align the whole macular OCT image to the retinal pigment epithelium layer (RPE) (one of the structures with greater reflectivity in an OCT retinal image), in order to reduce error when performing the corresponding analysis (Figure 2) [8]. An intrinsic consequence associated to denoising algorithms is the decrease of image resolution [8], thus, it is important to ensure the balance between the reduction of speckle noise and loss of quality.



Figure 1. Diagram showing the sequence of tasks for macular OCT image processing

STEP 2: The used segmentation process is named *Caserel*, an efficient algorithm based on graph theory and developed by Chiu, S.J. [9] et al. and Teng, P. [10]. The algorithm offers high performance in the segmentation of retinal layers even when they lack high quality [11]. Many adjustments and code adaptations had to be performed to correct certain errors appearing in the patients' ERM OCT images segmentation.



Figure 2. Individual raw scan alignment to RPE, resulting in a flattened image

STEP 3: thickness and volume calculation use as input the graph cuts obtained from the segmentation algorithm. This calculation is obtained through an algorithm developed as part of this work and consisting of various connected functions that offer a reliable and validated result. For each retinal layer we obtain data on thicknesses (mm) and their standard deviation (mm); retinal layer area (mm²); and volume along the stack (mm³).

2.3. Design and implementation of the tool

Four main requirements were identified for the tool: 1) the health professionals should be able to perform the analysis by themselves without technical support; 2) the segmentation could be easily modified by the experts; 3) the results should be stored in a repository for further statistical analysis; and 4) case management to retrieve previous patient records. A collaborative design methodology with an active participation of the final users was followed. Prior to starting the development of the graphical user interface (GUI), some mock-ups were created to show an initial design approach, as well as the more relevant functionalities that would be developed later. Some additional implemented features are: support for both DICOM and TIFF file formats; visualization of the segmented paths; possibility of cropping and resizing the initial image for a shorter code computing time; adaptation of the outputs for the subsequent calculation of volumetric parameters; and the export of results.

Figure 3 show the finally designed user application. Volumetric results are presented both in tables (Figure 3a) and with a 3D visualization (Figure 3b) to visually perceive the spatial distribution of each structure.



Figure 3. Graphical user interface. a) Principal scenario; b) Segmentation visualization and edition; c) 3D visualization of retinal layers

The results are exported to a repository that contains data about the OCT study acquisition, date of volumetric analysis, results and further patient tracking information. All these results are included in a pdf report that can be delivered to the patient.

The development of the application was carried out in MATLAB 2019a, accomplishing the graphical user interface (GUI) with the MATLAB App Designer environment. The programmatical modules were mostly

developed through scripts. The application is compatible with Microsoft Windows 7/10 on x86/x64 based systems, and it can be distributed to health professionals in an installable version that includes MATLAB Runtime, so no external software installation is required. The final result is an easy to use, stand-alone desktop application that does not require any MATLAB license installed.

2.4. Technical validation and testing

In order to validate the volumetric parameters calculation, we created a synthesized image with known layers defined by means of sinusoidal and linear mathematical functions. This image contains predefined pixel dimensions and layer distances, so areas and volumes can be theoretically calculated and compared with the algorithm results. Very small differences were found due to the inherent pixel discretization errors, demonstrating the reliability of the calculated metrics.

A complete check of the tool performance in different terminals is performed. The application tests carried out on a computer with an Intel Core i7 @ 2.2 GHz / 4.1 GHz processor, 16 GB DDR4 RAM, NVIDIA GeForce GTX 1050 4 GB DDR5 GPU and 512 GB storage NVMe M.2 SSD yield figures of 28.61 seconds for the average segmentation time and 13.9 seconds for the average export time, as Figure 4 shows. Thus, low execution times are encountered within the tool.



Figure 4. Execution test results of the application

2.5. Design of the clinical validation study

The research hypotheses are that thickness and volume of the layers located in the inner face of the retina (NFL, GCL-IPL, INL) are greatly reduced after the surgical process applied to patients with ERM, being mainly notable after a certain recovery time; and that the visual prognosis is directly correlated with volume changes.

A cohort of patients with epiretinal membrane pathology and prescribed with a surgery for vitrectomy and ERM peeling is considered. Patients are recruited at the University Hospital Infanta Leonor of Madrid. Variations in the thickness and volume, and changes in the arrangement of the different retinal layers before and after a surgical process are studied.

A group of patients without retinopathies is taken as a control group, in order to evaluate the layers of the retina in healthy cases.

Visual acuity (VA); degree of metamorphopsia; presence of secondary pathologies and retinal OCT images, are collected both preoperative and postoperative. The degree of metamorphopsia is measured using M-CHARTS [12].

3. Results

In this section we present the preliminary results of the clinical study. At the time of the preparation of this communication, 23 patients were recruited, 16 suffered from ERM and underwent the surgical procedure of vitrectomy and peeling of the membrane, whilst the other 7 were healthy. From the ERM patients, some data about visual acuity, their degree of metamorphopsia, secondary pathologies and retinal OCT images, both preoperative and postoperative, were collected. Postoperative images were taken one or two months after surgery. Of the 16 patients with ERM, 5 of them were dismissed, owing to image focusing issues, finally considering a set of 18 patients, of which 11 are affected by ERM.

The characteristics of participant groups is shown in Figure 5. The average age of the 11 patients with ERM is 67.4 years, the median is 71 years and the maximum and minimum age of the group is 80 and 41 years, respectively. Five of the ERM patients are women and six are men. A greater diversity of ages in men can be denoted. However, the median age for each subset is 71 years for both men and women. As for the average, there is an age of 65.3 years for men and 69.8 for women. Among the 7 healthy participants of the study, the average age is located at 48.5 years, and the median is 41.5 years. The maximum and minimum age of this subset is 79 and 22 years, respectively. Five of them are women and two are men.



Figure 5. Distribution of study participants

The average age by sex is 60 years for women and 25.5 years for men. The median for each healthy gender group is 65.5 years for women and 25.5 years for men. Among the 18 OCT studies finally considered, 10 of them refer to the left eye (L), whilst the other 8 refer to the right eye (R).

Results suggest that retinal thickness, and therefore its volume, was diminished after the ERM peeling, getting

closer to healthy patients' values (see Figure 6). Retinal volume differences can also be observed.

Visual acuity increased after surgery and its progression shows a general improvement in all cases but one, where VA remained constant (see Figure 7). Horizontal metamorphopsia (H) values (Figure 8) during the patient tracking show a significant decrease, contributing to an important visual function recovery.



Figure 6. Retinal layers' volume progression



Figure 7. Visual acuity and progression



Figure 8. Horizontal metamorphopsia evolution

4. Conclusions

A computer-based tool capable of segmenting and extracting volumetric information from OCT images has been designed and evaluated. A preliminary clinical study has been accomplished, with results showing an improvement in visual acuity and retinal thickness after vitrectomy and membrane peeling in patients with pathology of epiretinal membrane.

Acknowledgements

We would like to thank the patients that participated in this study for their support and collaboration in this work.

References

- Webpage of World Health Organization. (WHO 2018). Blindness and vision impairment. Retrieved from (date consulted: September 2019) <u>https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/blindness-and-visual-impairment</u>
- [2] Tortora, G. J. Principles of Anatomy and Physiology (13th ed.). John Wiley & Sons Inc, 2013.
- [3] Jung, J. J., Hoang et al. Long-term retrospective analysis of visual acuity and optical coherence topographic changes after single versus double peeling during vitrectomy for macular epiretinal membranes. *Retina-the Journal of Retinal* and Vitreous Diseases, 36(11), 2016, pp 2101-2109.
- [4] Debustros, S. et al. Vitrectomy for idiopathic epiretinal membranes causing macular pucker. *British Journal of Ophthalmology*, 72(9), 1988, pp 692-695.
- [5] Stankiewicz, A. et al. Novel full-automatic approach for segmentation of epiretinal membrane from 3D OCT images. Signal Processing: Algorithms, Architectures, Arrangements, and Applications (SPA), 2017, pp 100-105.
- [6] Macular Holes and Epiretinal Macular Membranes (Duane's Ophthalmology 2013 ed., Vol.6). Access: (Sept. 2019) <u>http://www.oculist.net/downaton502/prof/ebook/duanes/pages/v6/v6c061.html</u>
- [7] Won, Y., Kim, M., & Park, Y. Postoperative changes in the retinal thickness and volume after vitrectomy for epiretinal membrane and internal limiting membrane peeling. *Medicine*, 96(19), 2017.
- [8] Kafieh, R. et al. A review of algorithms for segmentation of optical coherence tomography from retina. *Journal of Medical Signals and Sensors*, 3(1), 2013, pp 45-60.
- [9] Chiu, S. J. et al. Automatic segmentation of seven retinal layers in SDOCT images congruent with expert manual segmentation. *Optics Express*, 18(18), 2010, pp 19413-19428
- [10] Teng, P. Caserel–An open source software for computeraided segmentation of retinal layers in optical coherence tomography images. *Zenodo, DOI,* 10, 2013 doi: 10.5281/zenodo.17893.
- [11] Stankiewicz, A. et al. Improving segmentation of 3d retina layers based on graph theory approach for low quality oct images. *Metrology and Measurement Systems*, 23 (2), 2016, pp 269-280.
- [12] Arimura, E. et al. Quantification of metamorphopsia in a macular hole patient using M-CHARTS. Acta Ophthalmologica Scandinavica, 85(1), 2007, pp 55-59.

Desarrollo de un sistema de identificación, cuantificación y determinación de viabilidad celular de microorganismos indeseados en bebidas, capaz de pilotar en tiempo real un subsistema de tratamiento para su reducción/ control

J. Zabalo Carrere^{1,2}, C. Sobejano de la Merced², E. Pérez Lorenzo^{1,2}, J. Gamboa³, I. Zapiain⁴, S. Arana Alonso^{1,2}

¹Ceit, Manuel Lardizabal 15, 20018 Donostia / San Sebastián, Spain {sarana, eperez, jzabaloc}@ceit.es
 ²Universidad de Navarra, Tecnun, Manuel Lardizabal 13, 20018 Donostia / San Sebastián, Spain.
 ³ BIOGENETICS, Portal de Zurbano 3, 01013 Vitoria-Gasteiz, España, jgamboa@biogenetics.es
 ⁴Zapiain, KaleNagusia 96, Astigarraga, Gipuzkoa, Spain, izapiain@zapiain.eus

Resumen

Con el progresivo avance a un modelo 4.0 de la industria alimentaria se están desarrollando nuevos métodos de control en cuanto a calidad y seguridad alimentaria. En esta dirección y pensando en métodos para mejorar la calidad de los productos, en el caso de ciertas bebidas se ha observado que, en gran medida, la pérdida de propiedades organolépticas se debe principalmente a la presencia de microorganismos que, debido a su proliferación una vez que el producto ya ha sido elaborado, conllevan una merma de calidad. Hecho que conlleva a que los productores tengan que limitar la fecha de caducidad de los productos. El objetivo general de este trabajo se basa en el desarrollo de un innovador sistema de análisis de viabilidad celular que permita, mediante un tratamiento, reducir y cuantificar la concentración de microorganismos que afecten negativamente a las propiedades organolépticas de los productos líquidos en su envase final.

1. Introducción

Durante la elaboración de bebidas, y especialmente en las fermentadas, es habitual que, tras los procesos fermentativos, diversas poblaciones microbianas y celulares queden aún inmersas en sus productos. Este fenómeno de no poder llegar a controlar de manera precisa la viabilidad celular que se desarrolla en los productos tras ser embotellados o envasados, hace que dichos productos vayan perdiendo sus características organolépticas por la presencia de estos indeseados microorganismos, y, en muchos casos, tengan que ser desechados para el consumo. Por lo tanto, las industrias se ven obligadas a marcar una fecha de caducidad temprana para asegurarse que la calidad de sus productos es la correcta. Por ello, en los procesos industriales donde se utilizan microorganismos es muy importante el estudio de la viabilidad celular [1].

Uno de los métodos tradicionalmente utilizados para estudiar la viabilidad celular es el análisis del número de unidades formadoras de colonias (UFC), donde se estudia la capacidad de crecimiento de las células en medio sólido o líquido. También existen medidas de las zonas de inhibición del crecimiento. Las ventajas de estos métodos son el bajo coste y que son sencillos y fáciles de utilizar. Sin embargo, la principal desventaja es el largo tiempo de espera para obtener los resultados, así como el espacio necesario para el almacenamiento e incubación de las placas de cultivo [2].

Existen otros métodos (tales como tintes, determinación de la actividad metabólica, etc) que también se emplean para determinar la viabilidad celular. Sin embargo, todos ellos presentan una serie de desventajas que hacen que los resultados no sean del todo precisos.

La necesidad de controlar la carga microbiana presente en las bebidas y asegurar la calidad de los productos hace que se estén desarrollando métodos de tratamiento de bebidas cuyo propósito es eliminar la mayor cantidad de microorganismos y células que puedan dañar los productos. Uno de los mayores inconvenientes de aplicar sobre los productos este tipo de técnicas es el cambio que estas puedan causar sobre sus propiedades. Para ello, se desean desarrollar técnicas de control preventivo manteniendo la calidad, sabor y aroma de sus productos [3].

Existen diversos tratamientos tanto físicos como químicos para controlar la carga microbiana, pero presentan algunas desventajas significativas como son la instalación de equipos costosos en las industrias, la formación del personal para su uso y la posibilidad de efectos sensoriales negativos sobre sus productos [4]. De entre todos los métodos existentes, se ha considerado el tratamiento con luz UV como la técnica más adecuada para cubrir las necesidades de la industria alimentaria. Se trata de un tratamiento alternativo (no térmico) a los tradicionales métodos térmicos aplicados a alimentos y bebidas, y sin una apreciable pérdida en la calidad o contenido nutricional [5].

El objetivo de este trabajo consiste en proporcionar a la industria alimentaria una herramienta de diagnóstico rápido y sencillo, con el fin de detectar la presencia de las bacterias indeseables. Este conocimiento les permitiría prevenir el desarrollo de esta alteración mediante el uso de la tecnología apropiada para eliminar, o reducir a rangos admisibles, las bacterias contaminantes.

2. Materiales y métodos

2.1. Sub-Sistema de tratamiento

Para el sistema de tratamiento, se ha seguido la recomendación de la normativa de la FDA 21 CFR 179.39 que sugiere el empleo de tubos fluorescentes UV de mercurio de baja presión y que emitan más del 90% de la radiación en la longitud de onda de 253.7 nm [6].

Para ello se ha construido un equipo con tubos Philips TUV 36W SLV/6 con un tubo de cuarzo trasparente a la radiación UV en su interior como se ilustra en la **Figura 1**.



Figura 1. Equipo de tratamiento UV desarrollado

2.2. Sistema de identificación, cuantificación y determinación de viabilidad celular.

Para el sistema de identificación, cuantificación y determinación de viabilidad celular se ha empleado como base la plataforma microfluídica OpenDrop modificada para poder realizar PCR *on chip* (Figura 2) así como otras técnicas empleadas para la determinación de viabilidad celular.



Figura 2. Plataforma OpenDrop como base para el desarrollo del sistema de cuantificación.

El sistema se ha modificado integrando un material de soporte conductor y transparente que permite un máximo control de los fluidos y permite implementar un sistema de PCR en gota *on chip*.

2.3. Cultivos microbiológicos

2.3.1 Sustancias químicas y reactivos

El medio de cultivo empleado para el aislamiento de las bacterias lácticas ha sido el agar MRS. Dicho medio ha sido autoclavado durante 20 minutos y, posteriormente, se ha distribuido, de manera homogénea, en placas Petri.

La sidra que se ha utilizado para llevar a cabo los ensayos ha sido proporcionada por la empresa ZAPIAIN. De momento, se ha analizado únicamente esta bebida para llevar a cabo este estudio.

2.3.2. Condiciones de estudio

Los estudios que se han realizado se han llevado a cabo con un único modelo de sidra embotellada, ya que se trata de un producto que por su elaboración tremendamente artesanal no integra ningún compuesto artificial de control de microorganismos. Para evaluar la existencia de diferencias significativas en el crecimiento bacteriano tras tratar las muestras con luz UV, se han analizado diferentes condiciones: sidra guardada a T^a ambiente, sidra guardada a 4ºC, sidra en reposo, sidra tras agitación. Además, se han estudiado distintos tiempos de exposición a la luz UV (5, 10 y 15 minutos) en cada una de las condiciones mencionadas. En cada uno de estos tiempos se han realizado distintas diluciones de la muestra control para poder contar el número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Se han llevado a cabo 3 repeticiones de cada una de las condiciones para poder obtener resultados fiables y concluyentes.

Las placas de cultivo sembradas con cada una de las condiciones han sido incubadas a 30°C durante 48 horas.

Tras pasar el tiempo de incubación, se ha analizado cada una de ellas por separado. Por una parte, se ha contado de manera manual cada una de las colonias que han crecido en el medio de cultivo agar MRS, y, por otro lado, se ha realizado un estudio microscópico de cada una de las colonias.

Como se ha comentado anteriormente, el contaje de UFC requiere largos tiempos de espera. Por ello, además de utilizar esta técnica para identificar las colonias se ha empleado la plataforma microfluídica OpenDrop, que permite llevar a cabo, de manera más rápida, la identificación de las colonias.

2.4. Estudio microscópico

Para llevar a cabo el estudio microscópico, se ha utilizado el microscopio estereoscópico Leica M60. Dicho estudio ha consistido en identificar y clasificar cada una de las colonias crecidas en las placas.

3. Resultados y discusión

3.1. Estudio microscópico de la población de bacterias lácticas

Tras realizar el estudio de la sidra tratada, se ha identificado una población de bacterias lácticas bastante numerosa presente en las muestras de sidra. Se han podido llegar a clasificar hasta 7 tipos diferentes de colonias, tal y como se observa en la **Figura 3**.

Estos tipos de colonias se han identificado tanto en las muestras de sidra que han estado guardadas a T^a ambiente como a 4°C. De la misma manera, las 7 colonias se han podido visualizar en las botellas de sidra en agitación y en reposo.



Figura 3. Imagen de las colonias visualizadas mediante la lupa en las placas de agar MRS. Las flechas en color rojo indican cada una de las colonias identificadas.

3.2. Estudio de las bacterias lácticas tras el tratamiento con luz UV

Tal y como se ha mencionado en el apartado anterior, la variabilidad de colonias visualizadas ha sido muy abundante en las muestras. Como la finalidad del estudio es reducir la cantidad de bacterias indeseables que alteran las propiedades de la sidra, el tratamiento UV se ha analizado en base a las colonias totales; es decir, sin distinguir entre las diferentes colonias identificadas.

Tras someter la muestra de sidra a 5, 10 y 15 minutos de exposición a la luz UV, se ha podido comprobar que la población de bacterias lácticas totales se reduce considerablemente, tanto en muestras guardadas a T^a ambiente (**Figura 4**) como a 4°C (**Figura 5**).



Figura 4. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias lácticas totales tras someter la muestra a 5, 10 y 15 min de luz UV con muestras guardadas a T^a ambiente



Figura 5. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias lácticas totales tras someter la muestra a 5, 10 y 15 min de luz UV con muestras guardadas a 4°C

Se puede observar en las muestras guardadas a T^a ambiente la reducción en el número de UFC es prácticamente 0 tras someter la muestra a 5min de luz UV, mientras que en el caso de las muestras guardadas a 4°C el número de UFC es casi nulo tras 15 min de exposición a la luz UV. Este hecho puede deberse a que las bacterias que se encuentran a 4°C han podido desarrollar algún mecanismo de protección para poder sobrevivir a esta temperatura, lo cual hace que tarde más tiempo en hacerles efecto la luz UV debido a este mecanismo.

Tanto los resultados que se observan en la Figura 4 como en la Figura 5, se han llevado a cabo con muestras que estaban en reposo. Repitiendo las mismas condiciones de exposición a UV con muestras agitadas, se han obtenido los siguientes resultados con muestras guardadas a T^a ambiente (**Figura 6**) y guardadas a 4°C (**Figura 7**).



Figura 6. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias lácticas totales tras someter la muestra a 5, 10 y 15 min de luz UV con muestras guardadas a T^a ambiente



Figura 7. Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de bacterias lácticas totales tras someter la muestra a 5, 10 y 15 min de luz UV con muestras guardadas a 4°C

Tanto en la Figura 6 como en la Figura 7, se puede observar que el número de UFC se reduce tras someter la muestra a la luz UV con el paso del tiempo. Se puede percibir que el número de UFC en el control tras 15 min de exposición no es tan bajo como en las muestras sin agitación. Esto puede deberse a que la muestra agitada puede tener un mayor número de bacterias en suspensión que la muestra que está en reposo, por lo que puede haber presente bacterias que sean más resistentes a la luz UV.

Estudios previos han mostrado la eficacia de la luz UV como tratamiento para reducir el número de microorganismos indeseables [7,8]. Sin embargo, en este estudio, el tiempo que se tarda en reducir la población microbiana es relativamente corto (en algunos casos a los 10 minutos se ha conseguido reducir casi todas las bacterias perniciosas). Esto supone una ventaja a la hora de poder controlar la población microbiana que altera las características de la bebida.

4. Conclusiones

Se ha logrado disminuir la carga microbiana total tras someter las muestras de sidra a la luz UV, siendo en algunos casos la reducción de casi 3 órdenes de magnitud menos respecto al control.

De manera general, se puede decir que la reducción de bacterias lácticas es prácticamente nula tras 15 min de exposición a UV tanto en muestras guardadas a T^a ambiente como en las conservadas a 4°C. Este resultado también se mantiene para las muestras que están en reposo y en agitación.

Se han llegado a identificar hasta 7 tipos diferentes de colonias de bacterias lácticas, lo cual demuestra la gran variabilidad de cepas presentes en las muestras de sidra.

Agradecimientos

Agradecer a las empresas Zapiain y BIOGENETICS por proporcionar las muestras de sidra y su colaboración en la

identificación de las cepas para poder llevar a cabo este estudio.

Referencias

[1] M.Nikolova, I. Savova, M. Marinov. An optimized method for investigation of the yeast viability by means offluorescent microscopy, J Cult Collect 3 (2002) 66-71.

[2] M. Kwolek-Mirek, R. Zadrag-Tecza. Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cells, FEMS Yeast Res 14 (2014) 1068-1079.

[3] V. Loureiro, A. Querol. The prevalence and control of spoilage yeasts in foods and beverages, Trends FoodSci Technol (1999) doi:10.1016/S0924-2244(00)00021-2.

[4] S. Van Wyk, FVM. Silva. Impedance technology reduces the enumeration time of Brettanomyces yeastduring beer fermentation, Biotechnol J 11 (2016) 1667-1672.

[5] T. Koutchma. UV light for processing foods in Ozone, Science and Engineering (2008) 93-98.

[6]<u>https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CF</u> <u>RSearch.cfm?fr=179.39</u>

[7] S.Kucuk Unluturka, H.Arastoopoura, T.Koutchma. Modeling of UV dose distribution in a thin-film UV reactor for processing of apple cider, Journal of Food Engineering 65 (1) (2004)125-136.

[8] L.M. Hinds, C.MG. Charoux, M. Akhter, C.P.O'Donnell, B.K. Tiwari. Effectiveness of a novel UV light emitting diode based technology for the microbial inactivation of Bacillus subtilis in model food systems, Food Control (2019) https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106910.

Dispositivo inteligente de espectroscopía de bioimpedancia para la estimación de la composición corporal

D. Naranjo Hernández^{1,*}, J. Reina Tosina¹, L.M. Roa Romero¹, G. Barbarov Rostán¹, P. Cejudo Ramos^{2,3}, F. Ortega Ruiz^{2,3}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Dep. de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España. *dnaranjo@us.es

² Unidad Médico Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España.

³ Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Madrid, España.

Resumen

La evaluación de la composición corporal resulta de gran utilidad clínica en diferentes áreas. La bioimpedancia es una de las técnicas más utilizadas para estimar la composición corporal. El objeto de este trabajo es describir una primera aproximación a un dispositivo inteligente de espectroscopía de bioimpedancia para su aplicación a la estimación de la composición corporal. Dicho dispositivo es capaz de realizar medidas de bioimpedancia en múltiples frecuencias configurables, procesar los datos para obtener el módulo y la fase de la bioimpedancia en cada una de las frecuencias, y transmitir de forma inalámbrica la información procesada. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la precisión y viabilidad de la tecnología propuesta.

1. Introducción

El análisis de la bioimpedancia es una de las técnicas más utilizadas para evaluar la composición corporal, ya que esta técnica no tiene las restricciones de los métodos de disolución y proporciona una mayor precisión en las estimaciones que los métodos antropométricos [1]. Además, las medidas de bioimpedancia presentan numerosas ventajas prácticas que han favorecido su rápido desarrollo [1]: la instrumentación es portable, es una técnica no invasiva, segura y fácil de realizar, los resultados se obtienen inmediatamente, y las medidas pueden ser repetidas tan a menudo como se desee, con una gran reproductibilidad inter-observador. La estimación de la composición corporal mediante técnicas de bioimpedancia ha demostrado ser de gran utilidad clínica en diferentes áreas: nefrología [2], nutrición [3], durante el embarazo [4], como complemento en el diagnóstico y monitoreo de afecciones relacionadas con el sistema cardiovascular [5], o en oncología [6], entre otras.

A pesar de los avances realizados en la aplicación clínica de la bioimpedancia, todavía existen algunos retos por resolver, como la integración de los dispositivos en sistemas de e-Salud que den soporte a una monitorización remota del usuario [7]. Además, la complejidad de los sistemas de bioimpedancia suele ser bastante alta (invección de corriente. medición de voltaie. demodulación, procesamiento, etc.) y el uso de señales de alta frecuencia (de decenas a cientos de kHz) generalmente requiere un alto consumo de energía, por lo que se plantean nuevos desafíos para la optimización del hardware en tamaño, robustez y precisión [1], [8]. Por otro lado, a pesar de que la técnica de espectroscopía de bioimpedancia ha demostrado ser más precisa y robusta que la técnica monofrecuencia, la mayoría de los dispositivos basan su funcionamiento en la medida en una única frecuencia [1], [9].

En este contexto, el objeto del presente trabajo es describir una primera aproximación a un dispositivo inteligente de espectroscopía de bioimpedancia para la estimación de la composición corporal. Este primer estudio se centrará en la investigación, desarrollo y validación de la instrumentación de medida, procesado y envío inalámbrico de valores de bioimpedancia complejos.

2. Materiales y métodos

El desarrollo del dispositivo de bioimpedancia ha seguido una metodología de diseño centrado en usuario, modular, para facilitar la integración de nuevas tecnologías y funcionalidades, y basada en estándares. Para el diseño electrónico se empleó el paquete software Cadence OrCAD (versión 16.0). Para la implementación de las placas de circuito impreso se empleó la fresadora ProtoMat S62 de LPKF. El código de procesado para la estimación de los valores de bioimpedancia fue desarrollado en lenguaje ensamblador para su programación embebida en el subsistema de procesado del dispositivo inteligente.

Para una primera validación de la etapa de instrumentación del dispositivo se ha diseñado un patrón circuital que permite emular diferentes valores de bioimpedancia en un rango afín a los que se obtendrían en medidas de bioimpedancia reales sobre personas con diferentes características corporales. La Figura 1 muestra el esquemático del patrón circuital. Se considerará que el dispositivo inteligente de bioimpedancia funciona de forma correcta según las especificaciones de diseño si el error definido como la distancia en el plano complejo está por debajo del 1% en 22 frecuencias distribuidas de forma logarítmica entre 5 kHz y 1 MHz.

Para una segunda validación del dispositivo se ha realizado un estudio cuasi-experimental en un entorno clínico controlado sobre pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC). Se ha seleccionado este caso de uso porque la pérdida de peso corporal y la disminución de la masa muscular, son algunas de las características extra-pulmonares más investigadas en los pacientes con enfermedades respiratorias crónicas [10].

El funcionamiento del dispositivo fue contrastado con un sistema clínico comercial basado en la técnica de

espectroscopía de bioimpedancia, Body Composition Monitor (BCM) de Fresenius Medical Care, empleado comúnmente para el análisis de la composición corporal. Ambos dispositivos fueron empleados de forma cuasisimultánea conforme al procedimiento estándar de medidas con cuatro electrodos en posición decúbito supino [1]. El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario Virgen del Rocío y los participantes firmaron el consentimiento informado. Se analizó la reproducibilidad de las medidas comparando los valores del módulo de la bioimpedancia en las frecuencias mencionadas anteriormente. No se han empleado los valores de fase porque pueden estar afectados por retrasos en las señales causados por los electrodos, los cables y el hardware [1].

Para realizar el análisis comparativo de las medidas del prototipo respecto del sistema de referencia se utilizaron parámetros estadísticos como el valor medio y la desviación estándar del error. También se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson, considerando resultados estadísticamente significativos cuando p < 0.05. La concordancia entre los dos dispositivos también fue evaluada mediante un diagrama de Bland-Altman. Para el análisis de los datos se empleó el paquete de programación Matlab (versión R2018a).

3. Resultados

3.1. Arquitectura del sensor inteligente de bioimpedancia

La arquitectura del dispositivo de bioimpedancia sigue el siguiente esquema de diseño modular descrito en forma de subsistemas (ver Figura 2):

- Subsistema de sensorización: El cual engloba el hardware necesario para realizar las medidas de bioimpedancia. Dicho subsistema genera una corriente eléctrica alterna de amplitud conocida para ser inyectada en el cuerpo humano a través de dos electrodos (electrodos distales). Por medio de otros dos electrodos situados en el camino de la corriente (electrodos proximales) el subsistema de sensorización realiza una medida de la tensión generada por la circulación de la corriente.
- Subsistema de procesado: Integra los elementos hardware, software y firmware del sensor inteligente de bioimpedancia que se aplican en el procesado de estimación del módulo y la fase de la bioimpedancia en cada una de las frecuencias. Las frecuencias pueden ser configuradas de forma remota mediante el envío de un comando. El subsistema de procesado también se encarga de la correcta activación y configuración de los diferentes módulos del subsistema de sensorización cada vez que se realice una nueva medida de bioimpedancia. Se reduce así el consumo de energía del sensor inteligente de bioimpedancia, derivando los diferentes módulos del subsistema de sensorización a modos de operación de bajo consumo cuando éstos no sean necesarios. El subsistema de procesado está implementado en un microprocesador PIC18LF2431 de Microchip.



Figura 1. Patrón circuital empleado en la validación.



Figura 2. Prototipo del dispositivo de bioimpedancia.

- Subsistema de comunicaciones: Se ha empleado el módulo RN42 de Microchip para el desarrollo de las comunicaciones inalámbricas del sensor inteligente de bioimpedancia conforme al perfil SPP del estándar de Bluetooth v2.1. Las comunicaciones son bidireccionales para permitir, en un sentido, el envío de los resultados del subsistema de procesado, y, en el otro sentido, la configuración remota del sensor inteligente mediante el envío de comandos.
- Subsistema de almacenamiento de datos: Se encarga del correcto almacenamiento de los datos empleados por el sensor inteligente de bioimpedancia. Para desarrollar el subsistema de almacenamiento de datos se emplean las memorias SRAM y EEPROM del microprocesador.
- Subsistema de temporización: El cual se ocupa del mantenimiento de un sistema de temporización en tiempo real y de la asignación a cada medida del instante temporal en el que éstas fueron realizadas para su registro y posterior seguimiento. Dicho subsistema se encarga además de avisar al subsistema de procesado de los instantes para la realización de operaciones cuya temporización ha sido preconfigurada. Un cristal externo de 32.768 kHz y uno de los temporizadores del microprocesador son empleados para gestionar su operación.
- Subsistema de energía: Proporciona las tensiones de alimentación necesarias para el correcto funcionamiento de todos los subsistemas.

3.2. Arquitectura del subsistema de sensorización

El subsistema de sensorización es el resultado de una novedosa transformación del esquema de detección

genérico de demodulación de señales en cuadratura [1], [11]. Como ventaja sobre otros sistemas, el esquema empleado utiliza un único multiplicador, lo cual permite reducir costes, evitando además errores derivados de posibles diferencias entre componentes.



Figura 3. Arquitectura del subsistema de sensorización

El subsistema de sensorización se descompone en los siguientes módulos funcionales, como muestra la Figura 3:

- Módulo de generación de señal de inyección (M₁): Se trata de un oscilador programable que utiliza la técnica de Síntesis Digital Directa de frecuencias (DDS). Este módulo genera una señal (S₁) de tensión senoidal de amplitud fija (A₁). La frecuencia (f₁) de la señal (S₁) puede ser configurada para realizar un barrido de medidas de bioimpedancia en diferentes frecuencias configurables.
- Módulo de amplificación de señal de inyección (M₂): Amplificador de ganancia (A₂) aplicado sobre la señal (S₁) para generar la señal (S₂).
- Módulo de conversión tensión-corriente (M₃): Amplificador de transconductancia que convierte la señal de tensión a la salida del módulo de amplificación de señal de inyección (S_2) en una señal de corriente (S₃), invectada en el cuerpo humano a través de los electrodos distales. La amplitud (A_I) de la intensidad de corriente invectada tiene un valor constante, prefijado para que la corriente inyectada cumpla con las normativas de seguridad internacionales [1]. Además, dicha amplitud de corriente es independiente de la impedancia del cuerpo humano, la impedancia de los electrodos y la frecuencia en la que se realiza la medida.
- Módulo de detección de señal (M₄): Amplificador de instrumentación que amplifica con una ganancia (A₄) la tensión detectada a través de los electrodos proximales (S_B), generando la señal (S₄). La impedancia de entrada del amplificador de instrumentación es muy elevada para que la caída de tensión en los electrodos proximales pueda considerarse despreciable.
- Módulo de generación de señal de interna (M₅): Genera una señal interna de tensión senoidal (S₅) con el mismo valor de amplitud (A₁) y frecuencia (f₁) que la señal (S₁), pero con una diferencia de fase (Φ₅) que

alterna sus valores entre 0° y 90° para la medida de las señales en fase y cuadratura. Para su implementación se utiliza otro DDS con las mismas características que M₁. Como cualquier diferencia en las frecuencias generadas por ambos módulos, por pequeña que sea, produce una deriva continua del desfase entre ambas señales, se utiliza un único cristal de 50 MHz como referencia temporal para ambos DDS. De este modo, ambos dispositivos tienen exactamente la misma frecuencia y el desfase entre las señales de ambos módulos permanece constante a lo largo del tiempo.

- Módulo de amplificación de la señal interna (M₆): Amplificador de ganancia (A₆) aplicado sobre la señal (S₅) para generar la señal (S₆).
- Módulo multiplicador (M₇): Este módulo genera la señal (S₇) como resultado de la multiplicación de la señal (S₄) y la señal (S₆).
- Módulo de filtrado (M₈): Es un filtro activo paso de baja de segundo orden basado en amplificadores operacionales con una frecuencia de corte de 13.8 Hz que extrae la componente de continua (S₈) de la señal (S₇).
- Módulo de conversión Analógico-Digital (M₉): Este módulo es el encargado de convertir la señal analógica (S₈) en señales digitales con las que pueda operar el subsistema de procesado, el cual se encargará de calcular el módulo y la fase de la bioimpedancia siguiendo el procedimiento estándar de demodulación de señales en cuadratura [1], teniendo en cuenta a su vez las características del esquema propuesto. Para su implementación se utiliza uno de los conversores analógico-digital de 10 bits del microcontrolador.

	Total	Hombres	Mujeres
Número voluntari	os 12	9	3
	Valor medio	Desviació	n estándar
Peso (kg)	95.8	18.6	
Edad (años)	60.6	7.6	
Estatura (cm) 163.5		6.	1

 Tabla 1. Características antropométricas de los voluntarios.

3.3. Resultados de validación

Siguiendo el procedimiento descrito en la Sección 2, se evaluaron todas las configuraciones del patrón circuital. El error cometido en todas las estimaciones estuvo por debajo del 1%, lo que permitió validar la precisión y fiabilidad del dispositivo inteligente de bioimpedancia.

En el segundo estudio de evaluación del dispositivo participaron 12 pacientes con EPOC incluidos en el programa de Rehabilitación Respiratoria del Hospital Universitario Virgen del Rocío. En la Tabla 1 se muestran las características antropométricas de los voluntarios participantes en el estudio.

El error medio en el módulo de la bioimpedancia fue de 1.3 Ω con una desviación estándar de 2.1 Ω , encontrándose una alta correlación entre las medidas (r=0.9984,

p<0.0000001). La Figura 4 muestra el diagrama de Bland-Altman de las estimaciones realizadas con los dos dispositivos.



Figura 4. Figura 1. Análisis de concordancia mediante diagrama de Bland-Altman.

4. Discusión

Los resultados de precisión, con un error inferior al 1%, son comparables a los obtenidos en sistemas similares [12]. Dicha precisión ha sido verificada en múltiples configuraciones de un patrón circuital. El empleo de dicho patrón, con resistencias y condensadores de parámetros conocidos, es necesario para evaluar las estimaciones, ya que los valores de bioimpedancia reales del cuerpo humano no pueden ser conocidos a priori.

Los resultados obtenidos en la segunda evaluación muestran una alta concordancia con el dispositivo de referencia, con el 95% de las medidas en el intervalo de ± 7 Ω , lo cual es razonable ya que el dispositivo de referencia también tiene su propia precisión, y las medidas fueron realizadas sobre el cuerpo humano donde múltiples efectos parásitos pueden tener lugar (movimientos, efectos capacitivos, diferencias en los cables que unen los dispositivos con los electrodos, etc.). Comparativas en otros estudios han mostrado discrepancias similares al medir en el cuerpo humano [13].

5. Conclusiones

Se ha investigado, desarrollado y validado un novedoso dispositivo inteligente de espectroscopía de bioimpedancia para su aplicación en la estimación de la composición corporal. Se trata de una primera aproximación del sistema en la que se ha abordado el problema de la medida de bioimpedancia compleja multifrecuencia. Frente a otros sistemas comerciales sus principales ventajas son un bajo coste y un diseño modular sostenible. Otras ventajas del dispositivo son la portabilidad y las comunicaciones inalámbricas bi-direccionales para su manejo remoto. Los resultados han mostrado la precisión y viabilidad de la solución propuesta.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, bajo el proyecto PI15/00306, en parte por la Fundación Progreso y Salud, Gobierno de Andalucía, bajo el proyecto PIN-0394-2017, en parte por la Fundación Mutua Madrileña, bajo el proyecto VÍA-RENAL y en parte por el Programa Eurostars de la Comisión Europea, bajo el proyecto FRAIL.

Referencias

- Naranjo D, Reina J, Min M. Fundamentals, recent advances and future challenges in bioimpedance devices for healthcare applications. *Journal of Sensors*. vol 2019, 2019, pp 1 - 42.
- [2] Zhang H, Tao X, Shi L, Jiang N, Yang Y. Evaluation of body composition monitoring for assessment of nutritional status in hemodialysis patients. *Renal failure*, vol 41, no 1, 2019, pp 377-383.
- [3] Ellegård L, Aldenbratt A, Svensson MK, Lindberg C. Body composition in patients with primary neuromuscular disease assessed by dual energy X-ray absorptiometry (DXA) and three different bioimpedance devices. *Clinical Nutrition ESPEN*, vol 29, 2019, pp 142-148.
- [4] Piuri G, Ferrazzi E, Bulfoni C, et al. Longitudinal changes and correlations of bioimpedance and anthropometric measurements in pregnancy. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, vol 30, no 23, 2017, pp 2824-2830.
- [5] Dégi, AA, Bárczi A, Szabó D, Éva É, Reusz GS, Dezsfi A. Cardiovascular risk assessment in pediatric liver transplant patients. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol 68, no 3, 2019, pp 377-383.
- [6] Lee JY, Ryu HS, Yoon SS, et al. Extracellular-to-Intracellular Fluid Volume Ratio as a Prognostic Factor for Survival in Patients With Metastatic Cancer. *Integrative Cancer Therapies*, vol 18, 2019, pp 1-7.
- [7] Rossi S, Mancarella C, Mocenni C, Della Torre L. Bioimpedance sensing in wearable systems: From hardware integration to model development. *IEEE 3rd International Forum on Research and Technologies for Society and Industry*, 2017.
- [8] de Carvalho PRB, Palacio JAA, Van Noije W. Area optimized CORDIC-based numerically controlled oscillator for electrical bio-impedance spectroscopy. *IEEE International Frequency Control Symposium (IFCS)*, New Orleans, LA, 2016, pp 1-6.
- [9] Ismail AH, Leonhardt S. Simulating non-specific influences of body posture and temperature on thigh-bioimpedance spectroscopy during continuous monitoring applications. *Journal of Physics: Conference Series*, vol 434, 2013.
- [10] Abbatecola AM, Fumagalli A, Spazzafumo L, et al. Body composition markers in older persons with COPD. Age and Ageing, vol 43, no 4, 2014, pp. 548-553.
- [11] Kassanos P, Constantinou L, Triantis IF, Demosthenous A. An integrated analog readout for multi-frequency bioimpedance measurements. IEEE Sensors Journal, vol 14, no 8, 2014, pp. 2792–2800.
- [12] Allegri D, Donida A, Malcovati P, Barrettino D. CMOS-Based Multifrequency Impedance Analyzer for Biomedical Applications. *IEEE Transactions on Biomedical Circuits* and Systems, vol 12, no 6, 2018, pp. 1301-1312.
- [13] Silva AM, Matias CM, Nunes CL, et al. Lack of agreement of in vivo raw bioimpedance measurements obtained from two single and multi-frequency bioelectrical impedance devices. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol 73, no 7, 2019, pp. 1077-1083.

Potenciales corticales eléctricamente evocados para el análisis de los parámetros de estimulación del implante coclear

M.A. Callejón-Leblic¹, M.M. Barrios-Romero², M. Díaz-Gómez², A. Postigo¹, S. Sánchez¹

¹ Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, España, <u>mcallejon@us.es</u>, <u>serafin.sanchez.sspa@juntadeandalucia.es</u>, <u>apostigo.sspa@juntadeandalucia.es</u> ² MED-EL, España, <u>mariadelmar.barriosromero@medel.com</u>, <u>miguel.diaz@medel.com</u>

Resumen

El implante coclear (IC) permite la audición en adultos y niños con pérdida auditiva de severa a profunda mediante la inserción en la cóclea de un conjunto de electrodos que descargan impulsos eléctricos al nervio auditivo. El ajuste de los niveles de intensidad eléctrica necesarios para proporcionar una determinada sensación sonora se realiza en base a las respuestas subjetivas dadas por los propios usuarios, validadas con pruebas clínicas como la audiometría tonal en campo libre, procedimiento que resulta más complejo en el caso de niños pequeños y adultos con limitada capacidad para ofrecer información útil al explorador. En este trabajo se propone el desarrollo de una tecnología de medición electrofisiológica objetiva basada en el registro de señales de potenciales corticales eléctricamente evocados (en adelante eCAEP), como herramienta útil en la evaluación del efecto de diferentes parámetros de estimulación del IC. Los resultados de este estudio abarcan el registro y análisis de un conjunto de medidas eCAEP en un grupo de usuarios de IC mediante estimulación eléctrica directa de varios electrodos posicionados en distintas partes de la cóclea.

1. Introducción

Los implantes cocleares (IC) son prótesis en las que un conjunto de electrodos espacialmente distribuidos a lo largo de la cóclea reemplaza la sinapsis de las células ciliadas dañadas mediante estimulación eléctrica directa de las neuronas aferentes del nervio auditivo [1].

Actualmente la programación o ajuste de las intensidades eléctricas con las que se estimula cada electrodo de un IC sigue una aproximación conductual que vincula el mapeo eléctrico de la cóclea con las respuestas subjetivas de los usuarios, validadas mediante pruebas clínicas como la audiometría tonal en campo libre [2], especialmente difícil en el caso de niños muy pequeños o usuarios adultos que presentan limitaciones para dar una respuesta adecuada al explorador. El uso de medidas electrofisiológicas objetivas proporciona información específica e independiente de la subjetividad del explorado y permite establecer valores iniciales para la programación del IC [3]. Sin embargo, algunas de las medidas utilizadas en la práctica clínica, como el umbral del reflejo estapedial [4], la telemetría de respuesta neural [5] y el potencial evocado del tronco cerebral [6], son medidas periféricas que, si bien corresponden a una primera fase de la audición, no tienen en cuenta todo el proceso auditivo, principalmente a nivel cognitivo. El hecho de que el proceso de aprendizaje y adaptación sea más lento y limitado en algunos usuarios indica que existen factores centrales, además de periféricos, responsables del pronóstico de rendimiento del IC [7].

En este trabajo se propone el desarrollo de una tecnología de medición de potenciales corticales eléctricamente evocados (eCAEP) mediante la estimulación directa de los electrodos intracocleares, optimizando la medida en estos usuarios frente a las experiencias previas con la presentación de los estímulos sonoros a través de un altavoz en el campo libre [8-9]. Los eCAEP muestran una serie de picos presentes en el EEG, el complejo P1-N1-P2 [10], cuya presencia se interpreta como evidencia del procesamiento central de la señal acústica o eléctrica, de ahí que hayan sido propuestos en la literatura para la evaluación de la función auditiva y la plasticidad cortical en estos usuarios [11-12].

El objetivo de este estudio es analizar la viabilidad de esta técnica como herramienta objetiva útil para determinar el impacto a nivel central de diferentes parámetros de estimulación del IC. De hecho, la metodología propuesta nos permitió considerar parámetros de estimulación personalizados para cada usuario iguales a los utilizados durante la programación de los ICs. Los resultados incluyen el análisis de la morfología y los valores de amplitud y latencia de las ondas eCAEP obtenidas en un grupo de usuarios de IC tras la estimulación eléctrica de varios electrodos posicionados en diferentes zonas (apical, medial y basal) de la cóclea.

2. Material y Métodos

2.1. Participantes

En este estudio participaron como voluntarios 7 adultos (6 mujeres, 1 hombre, 57.8±16.6 años) con experiencia de uso del IC de más de 1 año. El estudio clínico fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Los voluntarios fueron informados de los detalles de la investigación y dieron su consentimiento antes de la realización de la prueba. Todos los participantes eran usuarios implantados unilateralmente con IC de MED-EL (6 oídos derechos, 1 oído izquierdo).

2.2. Programación conductual del IC

Durante la programación del IC, los electrodos en la cóclea se estimulan con pulsos eléctricos de intensidad creciente hasta encontrar el valor de carga más alto capaz de



Figura 1.Imagen de la cóclea con guía de electrodos. Los electrodos analizados en este estudio han sido marcados con color magenta (electrodo 2, apical), cian (electrodo 6, medial) y amarillo (electrodo 10, basal). © Copyright MED-EL Elektromedizinische Geräte Gesellschaft m.b.H

proporcionar al usuario una sensación sonora confortable (valor MCL, en unidades de carga). La diferencia entre el valor MCL y el valor umbral eléctrico THR definen el rango dinámico eléctrico (EDR) del usuario en cada electrodo, y conforman su mapa clínico. Las guías de electrodos MED-EL usadas en este estudio tienen una longitud de 28 y 31,5 mm y poseen 12 electrodos que permiten emular el comportamiento tonotópico de la cóclea, estimulando entre 70 y 8500 Hz, aproximadamente.

2.3. Montaje experimental de medida eCAEP

2.3.1 Parámetros de estimulación

Para el registro de la onda eCAEP, los estímulos fueron dados mediante estimulación monopolar de los electrodos intracocleares a través de la interfaz MAX y el software de programación MAESTRO 8.0.2, a través de una antena conectada a la parte interna del IC. Los estímulos eléctricos consistieron en una ráfaga de pulsos bifásicos de fase inicial negativa de igual duración (50 ms) que la usada en la programación de los ICs. Igualmente, se respetaron los parámetros de duración de fase (µs) y tasa de repetición de los pulsos (pps) existentes en el mapa clínico de cada usuario. Cada ciclo de estimulación consistió por tanto en un mínimo de 100 estímulos enviados a un único electrodo de los tres analizados (apical 2, medial 6 y basal 10, ver Fig. 1) a una intensidad eléctrica correspondiente al 90% del MCL, presentados a una frecuencia de 1 Hz y en varias repeticiones de forma aleatoria para disminuir el efecto de adaptación cortical [13].

2.3.2 Registro de EEG

La señal EEG se registró con el sistema Nicolet EDX Synergy (Natus Medical Incorporated®, Pleasanton, CA, USA), mediante tres electrodos adhesivos colocados sobre la piel: el electrodo activo (+) sobre la parte superior de la frente (Fz), el electrodo de referencia (-) en el mastoide contralateral al IC, y el electrodo de tierra (G) en la parte inferior de la frente (Fpz). Para conseguir una mejor



Figura 2. Esquema de medida eCAEP.

calidad en el registro, la impedancia de los electrodos colocados sobre la cabeza se intentó mantener en todo momento por debajo de 5 K Ω . Para la medida eCAEP se necesita un pulso disparador (trigger) que sincronice la señal de estímulo lanzada por el software de programación del IC con el análisis promediador del sistema EEG de respuesta evocada, según se detalla en el esquema de medida de la Fig. 2. En la etapa pre-amplificadora, se usó un filtro paso baja analógico de 100 Hz, un filtro paso alta de 1 Hz y un filtro rechazo de banda de 50 Hz. Para minimizar el artefacto de radiofrecuencia (RF), el cable de antena se mantuvo lo más separado posible de los cables de electrodos. Se usaron epochs de -150 a 600 ms (con respecto al inicio del estímulo) y un mínimo de 100 promediaciones en distintas replicaciones, garantizando la reproductibilidad de la onda eCAEP. Por último, para minimizar el artefacto miogénico, se pidió a los participantes que se sentaran cómodamente en una silla reclinada mientras visualizaban un vídeo con subtítulos, descartándose las tramas con nivel de rechazo de $\pm 80 \mu$ V.

2.4. Análisis de los datos

Las señales registradas fueron importadas a Matlab donde fueron filtradas paso banda entre 0.1 y 20 Hz. Se analizó la morfología de las señales para cada uno de los sujetos y electrodos, identificándose la respuesta cortical a través de la inspección visual de los puntos N1 y P2. Como variables de este estudio, se consideraron los valores de carga eléctrica correspondientes al 90% del valor MCL (qu), la latencia de N1 (ms) y la amplitud N1-P2 (μ V) de la onda eCAEP en cada uno de los tres electrodos apical, medial y basal. Se realizaron test estadísticos ANOVA y de comparación por pares para determinar posibles diferencias en las variables debido al efecto de la estimulación en diferentes electrodos.

3. Resultados y Discusión

3.1. Valores MCL de carga eléctrica

Para el registro de la señal eCAEP, se usaron estímulos eléctricos con una intensidad equivalente al 90% del MCL



Figura 3. Rango de valores de carga eléctrica correspondientes al 90% del MCL para todos los sujetos en cada electrodo. Una unidad de carga (qu) equivale aproximadamente a 1 nC.

hallado para cada usuario en cada electrodo. La Fig. 3 muestra un diagrama de caja con los valores de carga eléctrica aplicados a los sujetos bajo estudio en cada uno de los tres electrodos. Nótese que los respectivos valores MCL fueron hallados de forma conductual acorde con la sensación sonora reportada por los propios usuarios y fueron contrastados con una prueba de audiometría en campo libre tonal, en la que todos los participantes presentaron umbrales auditivos en torno a 30 dB HL en las frecuencias de 250 a 4000 Hz.

La carga media suministrada en el electrodo basal fue la mayor con un valor de 32.28± 10.41 qu, seguida por el electrodo medial con 29.03±6.47 qu y el apical con 22.19±8.29 qu. Un test ANOVA de un factor sobre los niveles de carga correspondientes al 90% MCL no reveló diferencias estadísticamente significativas entre los tres electrodos analizados (F=2.5480, p>0.05). No obstante, la existencia de valores de carga más elevados en la zona basal con respecto a la apical está en consonancia con lo descrito en la literatura [14] y demuestra la importancia de realizar un ajuste preciso de los niveles MCL en los distintos electrodos. Estudios recientes han mostrado que los usuarios refieren mejor calidad del sonido cuando se utilizan mapas personalizados en comparación con mapas planos que usan valores de carga similares en todos los electrodos [15], poniendo de manifiesto la necesidad de seguir investigando en medidas objetivas que ayuden a optimizar este procedimiento.

3.2. Señales eCAEP

A efectos de visualización, la Fig. 4 muestra un ejemplo de las ondas eCAEP registradas para uno de los voluntarios en cada uno de los electrodos apical, medial y basal para un valor de carga eléctrica igual al 90% del valor MCL. Puede verse que la morfología de las señales corticales es reconocible en los tres electrodos, con valores de amplitud y latencia dentro del rango reportado para adultos en la literatura especializada (N1 entre 50 y 120 ms y P2 entre 150 y 250 ms). No obstante, la determinación de una



Figura 4. Ejemplo de onda eCAEP registrada para uno de los participantes en los tres electrodos apical, medial y basal.

respuesta P1-N1-P2 concluyente no resultó ser una tarea fácil en todos los casos. Algunos participantes encontraron dificultad para mantener relajados, y el EEG fue contaminado con artefactos miogénicos resistentes al rechazo del artefacto. En concreto, no se pudo obtener una respuesta concluyente para el sujeto 3 en el electrodo medial ni para el sujeto 5 en el basal, por lo que dichos registros fueron excluidos de este análisis. Estas consideraciones ponen de manifiesto la complejidad de esta medida y la necesidad de seguir investigando en el desarrollo de metodologías que permitan optimizar su registro para trasladarlas de forma eficiente a la práctica clínica.

3.3. Valores de amplitud N1-P2 y latencia N1

Los resultados de amplitud N1-P2 y de latencia N1 para todos los sujetos y electrodos considerados se representan en la Fig. 5. El electrodo medial fue el que presentó una mayor amplitud media de la onda eCAEP, seguido por el electrodo apical y el basal. Un test ANOVA halló diferencias estadísticamente significativas (F=14.385, p<0.05) entre los tres electrodos. En concreto, una prueba post-hoc de comparación por pares reveló una diferencia estadísticamente significativa (Tukey, p=0.0097) en los



Figura 5. Rango de valores de amplitud N1-P2 (μV) y latencia N1 (ms) para todos los sujetos en los tres electrodos.

valores de amplitud eCAEP para los electrodos medial y basal en el nivel de significancia del 5%. Corroborando estudios previos en los que se encontró una menor amplitud de la respuesta cortical en el electrodo basal [16-18], algunos autores han sugerido como posible causa el hecho de que típicamente exista un mayor tiempo de deprivación auditiva en esta zona basal codificadora de altas frecuencias. Respecto a la latencia del pico N1, se hallaron valores dentro del rango reportado en la literatura, entre 60 y 120 ms [10,13], sin detectarse diferencias significativas en la latencia de las señales entre unos electrodos y otros (ANOVA, F=0.92, p>0.05).

4. Resumen y Conclusión

La metodología de medida eCAEP propuesta en este trabajo ha permitido la obtención de respuestas corticales en un grupo de usuarios utilizando parámetros personalizados iguales a los usados durante la programación de sus ICs. Este estudio se centró en analizar el efecto de estimular diferentes electrodos posicionados en las zonas apical, medial y basal de la cóclea. Los resultados preliminares obtenidos con 7 usuarios mostraron una mayor amplitud media de la onda eCAEP en el electrodo medial, con una diferencia estadísticamente significativa respecto a la obtenida en el electrodo basal, en línea con resultados previos en la literatura [16-18].

En conclusión, la principal ventaja de este método de registro con respecto a la presentación de las señales sonoras desde un altavoz en el campo libre es la posibilidad de controlar los parámetros de estimulación eléctrica de forma más rigurosa y personalizada, pudiendo seleccionar parámetros personalizados del mapa clínico del usuario, proporcionando el estímulo eléctrico directamente desde el software de programación a los electrodos intracocleares del IC. Además, el estudio de técnicas de registro eCAEP mediante estimulación directa de los electrodos en la cóclea abre la puerta al desarrollo de futuras tecnologías de medición de potenciales corticales implementadas directamente a través de la electrónica del propio implante, lo que permitiría su uso estandarizado en la práctica clínica de forma más costo-eficiente y robusta.

Agradecimientos

Agradecer a los usuarios de IC que cedieron su tiempo y al personal del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla por su ayuda en la realización de las pruebas. Dar gracias también a MED-EL por su soporte técnico.

Referencias

- Zeng F-G, et al. Cochlear implants: system design, integration, and evaluation. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, vol. 1, 2008, pp. 115-142. (ISSN: 1937-3333)
- [2] Gross A. Fitting techniques for the pediatric cochlear implant patient. *Audiologyonline*, 2003, disponible en: <u>https://www.audiologyonline.com/articles/fittingtechniques-for-pediatric-cochlear-1128</u>. (Consultada: septiembre 2019)
- [3] Finke M, Billinger M, Büchner A. Toward automated cochlear implant fitting procedures based on event-related potentials. *Ear and Hearing*, vol. 38, no. 2, 2017, pp. 118-127. (ISSN: 0196-0202)

- [4] Kosaner J, et al. Clinically recorded cortical auditory evoked potentials from paediatric cochlear implant users fitted with electrically elicited stapedius reflex thresholds. Int. J. Ped. Otor., vol. 108, 2018, pp. 100-112. (ISSN: 0165-5876)
- [5] He S, Teagle HFB, Buchman CA. The electrically evoked compound action potential: from laboratory to *clinic. Front. Neurosci.*, vol. 11, 2017, p. 339. (ISSN: 1662-453X)
- [6] Fernández NM, et al. Electrically evoked auditory brainstem response over round window by bipolar stimulation. J Int. Adv. Otol., vol. 14, no. 3, 2018, pp. 370-4. (ISSN: 13087649)
- [7] Scheperle RA, Abbas PJ. Relationships among peripheral and central electrophysiological measures of spatial and spectral selectivity and speech perception in cochlear implant users. *Ear Hear.*, vol. 36, no. 4, 2015, pp. 441–453. (ISSN: 0196-0202)
- [8] Mathew R, et al. Development of electrophysiological and behavioural measures of electrode discrimination in adult cochlear implant users. *Hear. Res.*, vol. 367, 2018, pp. 74-87. (ISSN: 0378-5955)
- [9] Friesen LM, Picton TW. A method for removing cochlear implant artefact. *Hear. Res.*, vol. 259, no. 1–2, 2010, pp. 95– 106. (ISSN: 0378-5955)
- [10] Cañete O, Potenciales evocados auditivos de corteza: Complejo P1-N1-P2 y sus aplicaciones clínicas. *Rev. Otorrinolaringol. y cirugía cabeza y cuello*, vol. 74, no. 3, 2014, pp. 266–274. (ISSN: ISSN 0718-4816)
- [11] Polonenko MJ, Papsin BC, Gordon KA. Cortical plasticity with bimodal hearing in children with asymmetric hearing loss. *Hear. Res.*, vol. 372, 2019, pp. 88–98. (ISSN: 2045-2322)
- [12] Legris E, et al. Cortical reorganization after cochlear implantation for adults with single-sided deafness, PLoS One, vol. 13, no. 9, 2018, p. e0204402. (ISSN: 1932-6203)
- [13] Lightfoot G. Cortical Auditory Evoked Potential (CAEP) Testing. Recommended Procedure. British Society of Audiology, 2016, disponible en: (<u>https://www.thebsa.org.uk/wpcontent/uploads/2016/05/Cortical-ERA.pdf</u>) (Consultada: septiembre 2019)
- [14] Sainz M, et al. Analysis of programming maps and its application for balancing multichannel cochlear implants, *Int. J. of Audiology*, 2003 vol. 42, no. 1, pp: 43-51. (ISSN: 1499-2027)
- [15] Kurz A et al. Flat-based fitting: the evaluation and usefulness of a new strategy-based fitting approach for cochlear implants. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2019, vol. 276, no. 11, pp: 3239–3245. (ISSN: 0937-4477)
- [16] Visram AS *et al.* Cortical auditory evoked potentials as an objective measure of behavioral thresholds in cochlear implant users, *Hear. Res.*, 2015, vol. 327, pp. 35–42. (ISSN: 0937-4477)
- [17] Firszt, JB, et al. Neurophysiology of cochlear implant users I: effects of stimulus current level and electrode site on the electrical ABR, MLR, and N1-P2 response. Ear Hear., 2002, vol. 23, 502e515. (ISSN: 0196-0202)
- [18] Mao D, et al. Fully objective hearing threshold estimation in cochlear implant users using phase-locking value growth functions. *Hear. Res.*, 2019, vol. 377, pp. 24–33. (ISSN: 0378-5955)
Diseño e implementación de un pulsioxímetro reflexivo y estudio de su funcionamiento en diferentes zonas del cuerpo

F. González Romero, D. Naranjo Hernández, J. Reina Tosina

Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, Sevilla, España <u>fcoglezrom@gmail.com</u>, {jreina,dnaranjo}@us.es

Resumen

La frecuencia cardíaca y la saturación de oxígeno en sangre son dos signos vitales que proporcionan información sobre el estado de salud de una persona. Mediante un pulsioxímetro se puede hacer un seguimiento de estos dos parámetros. Con el fin de superar algunas de las limitaciones asociadas a la pulsioximetría tradicional, basada en la atenuación de la luz al atravesar una zona vascularizada, en este trabajo se ha considerado un método alternativo basado en el principio de reflexión. Para tal fin, se ha diseñado e implementado un prototipo de pulsioxímetro y se ha acompañado de un estudio para evaluar su funcionamiento en diferentes zonas del cuerpo en distintas personas. Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto las ventajas y limitaciones que presenta el método reflexivo frente al de transmisión.

1. Introducción

La supervisión en tiempo real de variables de interés clínico mediante sensores inteligentes integrados en el contexto de la e-salud se presenta como una de las tendencias más prometedoras para la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas [1], mejorando la calidad de vida de los ciudadanos y favoreciendo la sostenibilidad de los sistemas públicos de salud [2]. Según el Instituto Nacional de Estadística las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte en España [3]. Su tratamiento implica la monitorización y control de diferentes constantes vitales, entre las que se encuentran el pulso y el nivel de oxígeno en sangre.

El sistema de monitorización más extendido para conocer estas variables es el pulsioxímetro. En su forma más habitual tiene forma de pinza, que se coloca sobre un dedo y mediante transmisión de la luz que lo atraviesa se determina el pulso y la saturación de oxígeno. Los dispositivos que funcionan en transmisión, aunque son no invasivos, están limitados a partes periféricas del cuerpo, como los dedos o los lóbulos de las orejas. Además, en aquellos pacientes en los que se debe hacer una monitorización durante prolongados periodos de tiempo, llevar un pulsioxímetro de pinza en un dedo puede resultar molesto para el desempeño de actividades cotidianas.

Como alternativa a la técnica de transmisión se está constatando un interés creciente por pulsioxímetros a reflexión, si bien su uso en dispositivos comerciales todavía es escaso. La capacidad de funcionar en partes que no sean periféricas del cuerpo permite el desarrollo de pulsioxímetros que se coloquen en zonas como la cabeza [4], o la muñeca [5]. Además, las nuevas técnicas de procesado de señal y los entornos IoT ofrecen al usuario rapidez y sencillez en el uso de los dispositivos [6], manteniendo la precisión que puede ofrecer un oxímetro de pulso que utilice el método de transmisión. En la figura 1 [7] se ilustran los dos esquemas de funcionamiento posibles.



Figura 1 Esquemas de funcionamiento de un pulsioxímetro mediante transmisión y reflexión

Frente a un pulsioxímetro de pinza, un sensor basado en la reflexión de la luz podría funcionar en cualquier zona del cuerpo suficientemente vascularizada y su operación sería menos intrusiva para el paciente. No obstante, en los pulsioxímetros a reflexión la cantidad de luz que llega al fotodetector del sensor es menor que en el método tradicional. Este hecho, unido a las dificultades para lograr una fijación superficial que sea poco sensible a los movimientos del usuario, hacen que los pulsioxímetros a reflexión planteen retos de diseño importantes.

El principal objetivo de este trabajo ha sido diseñar e implementar un prototipo de pulsioxímetro capaz de medir el nivel de saturación de oxígeno en sangre y el pulso de una persona haciendo uso de un método reflexivo. Se pretende que su operación no quede limitada a una sola parte del cuerpo, como podría ser el dedo, por lo que se ha realizado un estudio para evaluar la viabilidad del dispositivo operando en diferentes zonas corporales.

2. Materiales y métodos

Las especificaciones de partida para el oxímetro de pulso a reflexión consideran que el dispositivo ofrezca una precisión comparable a un pulsioxímetro de pinza, manteniendo una operación no invasiva, mínimamente intrusiva, fácil de utilizar por cualquier persona y de bajo coste. Para el diseño y desarrollo del prototipo se ha optado por un diseño modular en el que se distinguen los siguientes subsistemas (véase Fig. 2).

247



Figura 2 Estructura modular del prototipo a reflexión

- Dispositivo sensor MAX3010, de Maxim Integrated, destinado a aplicaciones de pulsioximetría y ritmo cardíaco, que incluye dos leds (rojo e infrarrojo), un fotodetector, elementos ópticos y electrónica de bajo ruido con eliminación de luz ambiental [8]. Frente a otras opciones disponibles en el mercado este sensor destaca por su reducido tamaño, bajo coste y el material de apoyo disponible en línea.
- Microcontrolador Arduino Nano, responsable de adquirir los datos recibidos del sensor. El modelo seleccionado presenta características de bajo coste y consumo, reducido tamaño y capacidad de procesado adecuada a los requisitos del diseño. Para la configuración del sensor sobre Arduino se empleó la librería MAX3010x de SparkFun.
- Módulo de procesado para la determinación del pulso y saturación de oxígeno. En una primera aproximación, y a fin de evaluar la precisión del dispositivo, se considera un ordenador portátil con el entorno de computación Matlab, conectado al módulo Arduino mediante un cable USB.
- Cable para conectar el sensor al microcontrolador.
- Accesorios para la colocación del sensor. Para fijar a la piel la sonda del prototipo en la que se encuentra el sensor se han utilizado tiras de velcro, esparadrapo y una cinta de presión regulable para la cabeza del fabricante Nellcor.

Además de los materiales anteriores se ha utilizado el pulsioxímetro Hylogy MD-H32 como referencia para comparar los valores proporcionados por el prototipo.

Como metodología de validación, se han realizado estudios experimentales en voluntarios. En primer lugar, se han considerado zonas del cuerpo candidatas en las que se puede medir el pulso. A continuación, se han seleccionado aquellas en las que la calidad de señal es lo suficientemente buena como para ser procesada. Finalmente, se han utilizado dos algoritmos diferentes para el cálculo de la frecuencia cardíaca y la saturación de oxígeno en sangre, evaluando cuál funciona mejor en cada zona del cuerpo, según se expone en los siguientes apartados.

2.1. Estudio de las zonas óptimas de medida para el sensor de pulsioximetría reflexivo

Para medir la saturación de oxígeno en sangre es necesario localizar una zona en la que se pueda medir el pulso. Éste se toma mediante palpitación en las zonas del cuerpo próximas a una arteria. El procedimiento seguido consiste en localizar primero el pulso manualmente, una vez se tiene localizada la zona se coloca el sensor, y por último se analiza la calidad de la señal que es capaz de proporcionar el sensor en esa posición. Se han considerado también otras zonas que, a pesar de no encontrarse próximas a una arteria principal, permiten tener acceso vascular a arterias periféricas, como dedos, orejas, frente y región supraorbital.

2.2. Criterios de clasificación de las muestras adquiridas por el sensor

Las condiciones que debe cumplir la señal que se recibe en el sensor para poder ser procesada es que sea estable, periódica y una excursión pico a pico que permita distinguir con claridad los máximos y mínimos, ya que se usará la relación que existe entre ellos para el cálculo de la frecuencia cardíaca y la saturación de oxígeno en sangre.

En la evaluación del dispositivo se ha tenido en cuenta no solo la calidad de la señal, sino también que la medida se haya podido tomar en una posición cómoda y no intrusiva.

2.3. Métodos para el cálculo de la frecuencia cardíaca y la saturación de oxígeno en sangre

Sobre las zonas del cuerpo en las que se mide señal con calidad suficiente para ser analizada, se calcula la saturación de oxígeno (SaO_2) y la frecuencia cardíaca (FC) durante varios segundos y se obtiene la media en ese intervalo. Para comprobar si las medidas varían de una persona a otra se toman medidas en voluntarios adultos de diferentes edades, en reposo. Para la saturación de oxígeno se han empleado dos métodos independientes con el fin de comprobar cuál funciona mejor en cada parte del cuerpo. La principal diferencia entre ambos está en cómo se definen las componentes AC y DC de los leds y en la recta de calibración en función de *R*, empleada para el cálculo de la saturación de oxígeno en sangre.

El parámetro R está definido por la siguiente relación:

$$R = \frac{AC_{rojo}}{DC_{rojo}} / \frac{AC_{infrarrojo}}{DC_{infrarrojo}}$$

En el primer método implementado se localizan los picos y valles en cada periodo y se calcula *R*. AC y DC se definen en función de los picos y valles de la señal, tal y como se muestra en la Fig. 3, considerando en un periodo DC = Max y AC = Max-Min.



Figura 3 Método de picos y valles

Para el cálculo de la saturación de oxígeno, siguiendo este método, se emplearán dos rectas de calibración: la de Beer-Lambert [9], a la que nos referiremos como teórica (T), y la recta empírica de calibración de Scharf-Rusch [10] (S), que se definen de la siguiente forma:

$$SaO_{2teorica} = 115 - 30R$$

$$SaO_{2_{Scharf-Rusch}} = 110 - 25R$$

El otro método que se ha implementado está extraído del manual del sensor MAX30102, y es similar al anterior, si bien AC y DC se definen de forma diferente. A partir de dos mínimos adyacentes se traza una recta que pase por ellos, y se proyecta sobre ella el máximo entre los dos mínimos que une la recta, punto que se identifica con la componente DC. La componente AC se calcula restando al máximo la componente DC [11]. En la figura 4 se ilustra el cálculo de los valores DC y AC de la señal en un periodo.



Figura 4 Método extraído del manual del MAX30102

La recta de calibración que se ha empleado para este método también está descrita en el manual [11] (M) y es la siguiente:

$$SaO_{2_{Manual}} = 104 - 17R$$

En lo que respecta a la frecuencia cardíaca, se obtuvo a partir de los puntos de corte entre la señal del sensor y una versión filtrada de la misma.

3. Resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos con el prototipo de pulsioxímetro a reflexión diseñado.

3.1. Construcción y configuración del prototipo

Para la construcción del prototipo se comenzó soldando una hilera de pines a la placa de Arduino, y se conectó con un cable formado por cuatro hilos de cobre. Cada uno de estos hilos se soldó a un pin de la hilera y se recubrió la unión con plástico retráctil. Por su parte, para la conexión del sensor se utilizó el otro extremo del cable y los otros cuatro hilos de cobre correspondientes con la conexión de la placa de Arduino. Para proteger el fotodetector se colocó una lámina de acetato sobre él y el resto del circuito se recubrió con plástico retráctil, aplicando un soldador de calor. En la figura 5 se muestra el aspecto final del prototipo



Figura 5 Aspecto del prototipo de pulsioxímetro reflexivo

3.2. Búsqueda de las zonas óptimas para la toma de medidas

Para seleccionar los emplazamientos en los que el prototipo presenta mejor funcionamiento se tomaron medidas en un voluntario joven (23 años, 1.80 m de altura, 70 kg de peso y sin problema cardiorrespiratorio). En cada zona en que se analizó la señal se tomaron tres medidas independientes, colocando el sensor, realizando la medida y retirando el dispositivo. En las tablas 1 y 2 se resumen las zonas consideradas, habiéndose marcado aquellas en las que se recibió una señal de calidad y que posteriormente se utilizaron para la medida de la precisión del dispositivo.

temporal	carotideo	axilar	braquial	radial	cubital
\times					X

 Tabla 1 Zonas estudiadas en las que se tiene acceso a arterias principales

dedo	oreja	frente	ceja
X		X	X

Tabla 2 Zonas estudiadas en las que se tiene acceso a
arterias periféricas

3.3. Discusión de los resultados

De todas las zonas consideradas se seleccionaron como de interés el dedo, la muñeca (arteria cubital), la frente, la sien (arteria temporal) y la zona supraorbital. En este estudio participaron tres voluntarios adultos para comprobar si existen diferencias notables en el comportamiento del dispositivo entre personas de diferente edad, peso y altura. Para cada una de ellas se tomaron tres medidas en cada de zona estudiada. Una vez se obtuvieron los registros se procesaron utilizando los métodos referidos, comparando resultados con el pulsioxímetro comercial, empleado como referencia (véanse las tablas 3 y 4). El error indicado es la media y desviación típica de las diferencias obtenidas respecto de la referencia.

Posición	Error FC	Error SaO2	Error SaO2
sensor	(lat/min)	(T)	(S)
Dedo	0.06 ± 0.84	3.57 ± 0.58	1.01 ± 0.53
Muñeca	0.49 ± 0.81	1.81 ± 2.59	$\textbf{-0.33} \pm 2.22$
Frente	0.32 ± 0.91	6.37 ± 1.54	3.5 ± 1.30
Sien	0.06 ± 0.80	4.62 ± 1.53	1.99 ± 1.35
Ceja	0.37 ± 1.97	6.62 ± 1.18	3.68 ± 0.97

 Tabla 3 Errores medios método de picos y valles (media ± desviación típica)

Posición	Error FC	Error SaO2
sensor	(lat/min)	(M)
Dedo	0.07 ± 0.79	$\textbf{-0.64} \pm 0.58$
Muñeca	0.67 ± 1.57	-1.48 ± 1.82
Frente	0.26 ± 0.99	0.26 ± 0.71
Sien	$\textbf{-0.15} \pm 1.04$	0.42 ± 0.93
Ceja	0.24 ± 2.37	0.67 ± 1.11

Tabla 4 Errores medios método del manual(media ± desviación típica)

De las zonas en las que se ha procesado la señal, se ha observado que si se coloca el sensor en un dedo, la recta de calibración Scharf-Rusch es la que mejor se ajusta a las medidas que obtiene un pulsioxímetro comercial. En la muñeca, concretamente en la zona cubital, se recibe una señal en la que se pueden diferenciar máximos y mínimos, además la señal es periódica y su degradación por artefactos/ruido es aceptable, sin embargo, ninguna de las rectas de calibración que se han considerado se ajusta satisfactoriamente con los datos del pulsioxímetro comercial, por lo que habría que definir otras rectas de calibración y comparar los resultados. En el resto de zonas (frente, sien y ceja) se evidenció que no existen grandes diferencias entre las señales que se obtienen. La diferencia entre los máximos y mínimos en la señal que se recibe en estas zonas es menor que en la muñeca y el dedo, pero es suficiente para calcular los parámetros que se buscan. En estos casos la recta de calibración que mejor se ajusta a las medidas es la que se describe en el manual de uso del MAX30102. También hay que manifestar que en ninguna de las zonas en las que se ha procesado la señal, la recta de calibración Beer-Lambert ajustó correctamente, hecho que pone de manifiesto la necesidad de utilizar una calibración empírica en lugar de teórica.

En lo que se refiere al cálculo de la frecuencia cardíaca en reposo, se obtienen buenos resultados las cinco zonas consideradas independientemente del método utilizado. En el proceso de análisis de estos datos se observó que la desviación típica de los valores de frecuencia cardíaca del sujeto de mayor edad, 83 años, era mucho mayor que en el resto, posiblemente asociado a que esta persona reportó padecer una pequeña arritmia. No obstante, se puede concluir que el prototipo también es capaz de detectar si los latidos del corazón son regulares o no y si se está produciendo una alteración en el ritmo cardíaco.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha desarrollado un prototipo de pulsioxímetro a reflexión que ha permitido identificar las zonas del cuerpo en que mejor se puede aplicar a la determinación del nivel de saturación de oxígeno y frecuencia cardíaca. El dispositivo diseñado destaca por la utilización de componentes de bajo coste y logra una precisión comparable a un pulsioxímetro de pinza.

A través la validación del dispositivo con distintos voluntarios se ha constatado que el emplazamiento del sensor puede realizarse en distintas zonas del cuerpo, si bien podría reducirse el error aun más si se considerase una recta de calibración personalizada a la zona elegida. En todo caso, la posibilidad de colocarse sobre diversos emplazamientos constituye una ventaja en términos de intrusividad y comodidad para el usuario.

Como ampliación de este trabajo se plantea embeber el módulo de procesado de datos en el microcontrolador y dotarlo de comunicaciones inalámbricas, para disponer de un dispositivo integrado en una misma placa de circuito.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por la Fundación Progreso y Salud (Junta de Andalucía) bajo el proyecto PIN-0394-2017, por la Fundación Mutua Madrileña a través del proyecto VÍA-RENAL, y por el Programa Eurostars de la Comisión Europea, bajo el proyecto FRAIL.

Referencias

- [1] Dinesen B, Grann O, Nielsen C, Hejlesen O, Toft E. Telerehabilitation across sectors: The experiences of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients and healthcare professionals. 2nd International Conference on Wireless Communication, Vehicular Technology, Information Theory and Aerospace & Electronic Systems Technology (Wireless VITAE), Chennai, 2011, pp 1-4 (ISBN: 978-1-4577-0787-2).
- [2] Cao Z, Zhu R, Que R. A wireless portable system with microsensors for monitoring respiratory diseases. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 59, no 11, 2012, pp 3110-3116 (ISSN: 0018-9294).
- [3] Página web del Instituto Nacional de Estadística. Estadística de defunciones según la causa de muerte. http://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/operacion.htm?c=Es tadistica_C&cid=1254736176780&menu=ultiDatos&idp =1254735573175 (Consultada: Octubre 2019).
- [4] Azhari A, Yoshimoto S, Nezu T, Iida H, Ota H, Noda Y, Araki T, Uemura T, Sekitani T. A patch-type wireless forehead pulse oximeter for SpO2 measurement. *IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS)*, Turin, 2017, pp 1-4 (ISBN: 978-1-5090-5803-7).
- [5] Kao Y, Chao PC, Hung Y, Wey C. A new reflective PPG LED-PD sensor module for cuffless blood pressure measurement at wrist artery. *IEEE Sensors*, Glasgow, 2017, pp 1-3. (ISBN: 978-1-5090-1012-7).
- [6] Xie Y, Gao Y, Li Y, Lu Y, Li W. Development of wearable pulse oximeter based on Internet of Things and signal processing techniques. 2017 European Modelling Symposium (EMS), Manchester, 2017, pp 249-254.
- [7] Murali D, Rao DR, Rao SR, Ananda M. Pulse oximetry and IoT based cardiac monitoring integrated alert system. 2018 International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics (ICACCI), Bangalore, 2018, pp 2237-2243.
- [8] Maxim Integrated. MAX30102 High-sensitivity pulse oximeter and heart-rate sensor for wearable health. Datasheet, 2018.
- [9] González Romero F. Diseño e implementación de un pulsioxímetro reflexivo y estudio de su funcionamiento en diferentes zonas del cuerpo. Trabajo Fin de Grado, Universidad de Sevilla, 2019.
- [10] Scharf JE, Rusch TL. Optimization of portable pulse oximetry through Fourier analysis. *Proc. Twelfth Southern Biomedical Engineering Conference*, New Orleans, 1993, pp 233-235 (ISBN: 0-7803-0976-6).
- [11] Maxim Integrated. Recommended configuration and operating profiles for MAX30101/MAX30102 EV Kits. Application Note, 2018.

Contribution to the design of novel tailor-made magnetic biomaterials for blood detoxification through molecular dynamics simulations

C. González-Fernández, A. Basauri, M. Fallanza, E. Bringas, I. Ortiz

Dept. of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Cantabria, Santander, Spain, gonzalezferc@unican.es

Abstract

Biomaterials based on functionalized magnetic micro/nanoparticles have emerged as a noteworthy alternative for treating infectious illnesses, such as sepsis, where the capture of the disease-causing compound (Lipid A) from blood is the most direct treatment. In this regard, the selection of the appropriate functionalization agent is key for designing such biomaterials, since it must deliver both high affinity and selectivity towards the target. Anti-lipopolysaccharide factors (ALFs), that are part of the innate immune system of crustaceans, are promising candidates. In this work, we used Molecular Dynamics simulations to elucidate the binding mechanism and strength between Lipid A and rALF (ALF from the black tiger shrimp Penaeus monodon). Overall, this study sheds light into the interaction of ALFs with Lipid A, which is crucial for developing novel functionalized biomaterials for sepsis treatment.

1. Introduction

Sepsis, a systemic microbial infection, is reported as one of the primary causes of death in the developed world. [1, 2] Particularly, this infectious illness is caused by an exaggerated inflammatory response to the presence in the bloodstream of bacterial lipopolysaccharide (LPS), also known as endotoxin, which is a component of the outer membrane of Gram-negative bacteria. The endotoxic principle of LPS is attributed to one of its constituents, the Lipid A moiety. [3, 4] However, the direct removal of the disease-causing agent (i.e. Lipid A) from blood is a scientific and technical challenge. Although a variety of conventional techniques, such as dialysis and filtration, have been used, they pose several limitations, and thus, the development of novel strategies for sepsis treatment is of paramount importance for reducing its high mortality rate. [5, 6] Emerging advanced biomaterials based on tailored functionalized magnetic micro/nano-particles (MPs) hold great potential to be used as Lipid Acapturing agents, since the functionalization provides the selective sequestration of the target compound, whereas their magnetic nature allow their easy recovery by magnetic fields once the capture is completed (as seen in Fig. 1). Effectors involved in the innate immune response against Lipid A infection of crustaceans, such as the anti-LPS factors (ALFs), are potential candidates to functionalize the magnetic beads since they naturally interact with Lipid A. [7, 8]



Figure 1. Steps for blood detoxification with functionalized MPs

Understanding the interaction mechanism between Lipid A and ALFs is key for selecting the most appropriate functionalization compound and thus, for designing and improving biomaterials for blood detoxification with both high affinity (i.e. stable complex) and selectivity (to keep unimpaired blood quality). Although an endotoxinbinding domain, which is conserved among several ALFs, has been proposed in the literature, studies that explore the specific binding between such molecules are lacking [9]. Elucidating the interaction process by conventional experimental techniques is challenging not only because they are expensive and time-consuming but also because these interactions take place at atomic and molecular levels [10]. Molecular Dynamics (MD)-based computer simulations are effective for exploring such interaction mechanism as well as for predicting the strength of binding between the involved biomolecules.

In this work, we draw on MD simulations to gain insights into the interaction between Lipid A and rALF (ALF from the black tiger shrimp *Penaeus monodon*). In this regard, the most favorable binding pose derived from the simulations will be determined as well as the kind of the interaction (i.e. electrostatic, hydrophobic, hydrogen bonds, etc.). Finally, the affinity of the rALF-Lipid A complex is estimated, endorsing the nature of the interactions. This study provides a powerful basis for the design of potentially valuable biomaterials based on ALFs to overcome sepsis and can be used as a systematic approach to prioritize among several ALFs before experimental assessment.

2. Methodology

2.1. Modeling

The structure of rALF was obtained from the Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) Data Bank (PDB entry: 2job). This basic protein comprises three α -helices packed against a four-stranded β -sheet (see Fig. 2a). As conserved in ALFs, rALF contains two cysteine residues (represented in Fig. 2a in purple) forming a disulfide bond, and thus bracketing a β -hairpin (light blue loop).

To build the rALF-Lipid A complex, we relied on the hypothesis of Yang et al., [11] which stated that LPSbinding proteins have a similar Lipid A-binding domain, and thus, some amino acids of FhuA (a ferric hydroxamate uptake receptor found at the *E. coli* surface) have their counterpart in rALF. In this regard, we superimposed 7–10 β -strands of FhuA, whose structure in complex with LPS is available in the RCSB Data Bank (PDB entry: 1qfg), with the S1–S4 strands of rALF as Yang et al. [11] suggested. We obtained an almost perfect match between the amino acids of FhuA and rALF that Yang et al. [11] proposed as counterparts. Then, FhuA and the components of the LPS different from Lipid A were removed, achieving the rALF-Lipid A complex (see Fig. 2b).

In this study, Lipid A from *E. coli* was considered. Lipid A moiety, which is the most conserved part of LPS, consists of a β -(1 \rightarrow 6)-linked D-glucosamine (GlcN) disaccharide backbone. The glucosamines are phosphorylated at positions 1 and 4' of GlcN II and GlcN I respectively, and acylated at positions 2, 3 and 2', 3'. [12] In Fig. 2c, the structure of Lipid A has been depicted.



2.2. MD simulation setup

Simulations were performed with the GROMOS11 biomolecular simulation package and the GROMOS 54A8 force field. The SPC water model was used to solvate the system in a PBC rectangular box with a minimum-solute-to wall distance of 1.2 nm (box dimensions: 5.65 x 6.93 x 7.66 nm³). Sodium and chloride ions were added to mimic the buffer concentration that is usually employed for the experimental binding of the molecules here considered (0.15 mol L^{-1}). [13] The production simulations were carried out at 300 K and 1 bar using a weak coupling scheme for both temperature and pressure with a relaxation time of 0.1 and 0.5 ps respectively and an isothermal compressibility of 4.575E4 kJ⁻¹ mol nm³. The SHAKE algorithm was considered to constraint bond lengths. Nonbonded interaction up to a distance of 0.8 nm were calculated at every time step using a pairlist updated every five steps. Interactions up to 1.4 nm were computed at pairlist updates and kept constant in between. Beyond a cutoff of 1.4 nm, longrange electrostatic interactions were approximated by a generalized reaction-field with a relative dielectric permittivity of 61. Simulations were run for 50 ns.

2.3. Binding calculations

In order to assess the strength of the rALF-Lipid A interaction, the free energy of binding was estimated by the Linear Interaction Energy (LIE) method. According to this approach, the binding free energy (ΔG_{bind}) of a receptor (rALF) - ligand (Lipid A) complex is computed as the difference between the MD energy averages (angular brackets) of the ligand interactions with its surroundings in the bound and free states. [14, 15] For weighting the electrostatic (el) and van der Waals (vdw) components of such interactions, β =0.09 and α =0.18 values were considered, as stated in the literature for calculating the free energy interaction of Lipid A with other proteins. [4]

$$\Delta G_{\text{bind}} = \beta \left(\left\langle V_{\text{ls}}^{\text{el}} \right\rangle_{\text{bound}} - \left\langle V_{\text{ls}}^{\text{el}} \right\rangle_{\text{free}} \right) + \alpha \left(\left\langle V_{\text{ls}}^{\text{vdw}} \right\rangle_{\text{bound}} - \left\langle V_{\text{ls}}^{\text{vdw}} \right\rangle_{\text{free}} \right)$$
(1)

From the free energy value, the affinity constant (K_A) of rALF-Lipid A complex can be estimated according to eq. 2:

$$\Delta G_{\text{bind}} = -RT \ln K_{\text{A}} \tag{2}$$

On the other hand, the binding stability was also measured by calculating the size of the contact interface between the receptor and the ligand. For that purpose, the Solvent-Accessible Surface Area (SASA) of the complex, rALF and Lipid A was computed and the interface (I_{R-L}) was determined as follows:

$$I_{R-L} = \frac{SASA_{protein} + SASA_{LipidA} - SASA_{complex}}{2}$$
(3)

Figure 2. Structures of (a) rALF, (b) rALF - Lipid A complex, (c) Lipid A

3. Results and discussion

The Lipid A-binding site proposed in the literature, which is conserved among several ALFs, involves various amino acids of the β -hairpin. [8, 9, 11] However, a rALF-Lipid A binding conformation has not been rigorously demonstrated yet, although it is crucial for understanding their interaction mechanism. In this regard, Yang and coworkers hypothesized a rALF-Lipid A binding structure that comprises the external side of the β -hairpin (Fig. 2b). [11] As deduced from Fig. 3a, where the discovered binding pose of rALF-Lipid A complex after the simulation has been represented, our findings are in agreement with the suggested binding domain. Nevertheless, the ligand rotates in comparison to the proposed binding structure of Yang et al. [11], and moves towards the back side of the β -hairpin. This means that Lipid A moves around rALF in order to find an energetically more favorable binding site than the one initially proposed. Due to the type of the amino acids located in this area and the nature of the ligand, it is expected that hydrophobic interactions between acyl chains of Lipid A and hydrophobic residues of rALF play a pivotal role in the binding, as previously stated by Garate and Oostenbrink, who studied the interaction of Lipid A with several molecules involved in the human immune system response against LPS invasion. [4] It can be seen from Fig. 3a, that in our discovered binding mode acyl chains of the lipid become buried in the back side of the β -sheet, where several hydrophobic amino acids are located, thus demonstrating the importance of the hydrophobic interactions for a satisfactory binding. Furthermore, the presence of such type of interactions is easily deduced by looking at the contact surface depicted in Fig. 3b, that shows the lipid aliphatic tails embedded in the grooves of the peptide surface, proving the high complementarity between these molecules. These facts contrast to the hypothesized binding mode of Yang et al. who emphasize the electrostatic interactions between the Lipid A polar part and several positive and one negative charged amino acids mainly located in the external side of the β -hairpin. [11]



Figure 3. Binding pose of Lipid A into rALF, (a) backbone representation, (b) Surface representation

The likely hydrophobic character of the interactions is supported by the variability of the interface size as shown in Fig. 4. Hence, the sudden jumps from interface values around 6 nm² to zero (i.e. there is water between the protein and the lipid) confirmed the weakness of the binding, which reinforces the suggestion that hydrophobic interactions are the main driving force for the rALF-Lipid A complexation.



Figure 4. Interface area between rALF and Lipid A

On the other hand, the free energy of binding derived from the LIE method is -17.47 kJ mol⁻¹, which yields an affinity constant of 1.10E3 M⁻¹. This value is of the same order of magnitude than the values reported by Thomas and coworkers for the complexation of LPS with several molecules able to capture this toxin, namely, cyclic heptapeptide or dansyl-magainins analogs. [16, 17]

In Fig.5, the contribution of each component of the binding free energy is individually specified. It can be confirmed that hydrophobic interactions dominate the complexation, since the van der Waals term improves when transferring the ligand from the free to the bound state, whereas, the change of the electrostatic component is negligible.



Figure 5. Electrostatic (el) and van der Waals (vdw) contributions to the binding free energy

4. Conclusions

Molecular Dynamics simulation is a valuable tool for elucidating the binding mechanism of molecules at atomic and molecular level. We have used MD simulations to describe structurally and energetically the interactions of Lipid A with rALF. From the simulations, we have found a more favorable binding site that the one proposed in the literature, which is located in the internal side of rALF β hairpin. Hydrophobic interactions are key for rALF-Lipid A binding, showing affinities in the range of other LPSbinding molecules. Overall, this study provides the basis to advance in the development and design of novel biomaterials based on functionalized magnetic beads for being used in blood detoxification control.

5. Acknowledgements

Financial support from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness under the projects RTI2018-093310-B-I00 and CTQ2015-72364-EXP is gratefully acknowledged. C. González Fernández thanks the Concepción Arenal postgraduate research grant from the University of Cantabria. A. Basauri Penagos thanks the FPI postgraduate research grant (BES-2016-077206).

6. References

- Buchegger P, et al. Miniaturized protein microarray with internal calibration as point-of-care device for diagnosis of neonatal sepsis. *Sensors*, vol 12, sup 2, 2012, pp 1494-1508 (1424-8220).
- [2] Frodsham G, Pankhurst QA. Biomedical applications of high gradient magnetic separation: progress towards therapeutic haeomofiltration. *Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik*, vol 60, sup 5, 2015, pp 393-404 (ISSN: 1862-278X).
- [3] Gómez-Pastora J, et al. The reverse of controlled release: Controlled sequestration of species and biotoxins into nanoparticles (NPs), In: From Materials to Medical Devices: Drug Delivery Systems, Vol.1.World Scientific, 2017.
- [4] Garate JA, Oostenbrink C. Lipid A from lipopolysaccharide recognition: structure, dynamics and cooperativity by molecular dynamics simulations. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics,* vol 81, sup 4, 2013, pp 658-674 (ISSN 1097-0134).
- [5] Herrmann IK, et al. Blood purification using functionalized core/shell nanomagnets. *Small*, vol 6, sup 13, 2010, pp 1388-1392 (ISSN 1613-6829).

- [6] Schiffl H. High-flux dialyzers, backfiltration, and dialysis fluid quality. *Seminars in dialysis*, vol 24, sup 1, 2011, pp 1-4 (ISSN 1525-139X).
- [7] Somboonwiwat K, et al. Recombinant expression and antimicrobial activity of anti-lipopolysaccharide factor (ALF) from the black tiger shrimp Penaeus monodon. *Developmental & Comparative Immunology*, vol 29, sup 10, 2005, pp 841-851 (ISSN 0145-305X).
- [8] Lv X, et al. Identification and function analysis of an antilipopolysaccharide factor from the ridgetail prawn Exopalaemon carinicauda. *Developmental & Comparative Immunology*, vol 70, 2017, pp 128-134 (ISSN 0145-305X).
- [9] Tang T, et al. Functional analysis of Fenneropenaeus chinensis anti-lipopolysaccharide factor promoter regulated by lipopolysaccharide and (1, 3)-β-D-glucan. *Fish & shellfish immunology*, vol 38, sup 2, 2014, pp 348-353 (ISSN 1050-4648).
- [10] Wang Q, et al. Computer simulation of biomoleculebiomaterial interactions at surfaces and interfaces. *Biomedical Materials*, vol 10, sup 3, 2015, pp 1-17 (ISSN 1748-6041).
- [11] Yang Y, et al. NMR structure of rALF-Pm3, an anti-lipopolysaccharide factor from shrimp: Model of the possible lipid A-binding site. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, vol 91, sup 3, 2009, pp 207-220.
- [12] Knirel YA, Valvano MA. Bacterial lipopolysaccharides: structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells. Springer Science & Business Media, 2011 (ISBN: 978-3-7091-0732-4).
- [13] Budde C, et al. Purification and characterization of recombinant protein acyltransferases. *Methods*, vol 40, sup 2, 2006, pp. 143-150 (ISSN 1046-2023).
- [14] Ljungberg KB, et al. Computational modelling of inhibitor binding to human thrombin. *European journal of pharmaceutical sciences*, vol 12, sup 4, p. 441-446 (ISSN 0928-0987).
- [15] Miranda WE, Noskov SY, Valiente PA. Improving the LIE Method for Binding Free Energy Calculations of Protein– Ligand Complexes. *Journal of chemical information and modeling*, vol 55, sup 9, 2015, pp. 1867-1877 (ISSN 1520-5142).
- [16] Thomas CJ, Surolia A. Kinetics of the interaction of endotoxin with polymyxin B and its analogs: a surface plasmon resonance analysis. *FEBS Letters*, vol 445, sup 2, 1999, pp. 420-424 (ISSN 1873-3468).

Thomas CJ, Surolia N, Surolia A. Kinetics and thermodynamic analysis of the interactions of 23-residue peptides with endotoxin. *Journal of Biological Chemistry*, vol 276, sup 38, 2001, pp. 35701-35706 (ISSN 1083-351X).

Physiological responses and enjoyment of a Kinect-based exergame in older adults: A pilot study

A. Nicolau¹, C. Vaz¹, F.M. Esteban-Gómez², J. L. Moyano-Cuevas², J. Blas Pagador², N. Serra¹, C. Vila-Chã³

¹¹Polytechnic of Guarda, Portugal, andreianicolau@ipg.pt, claudiavaz@ipg.pt, nserra@ipg.pt

²Bioengineering and Medical Devices, Jesus Usón Minimally Invasive Surgery Centre, Cáceres, Spain, fmesteban@ccmijesususon.com, jmoyano@ccmijesususon.com, jbpagador@ccmijesususon.com

³Polytechnic of Guarda, Portugal; Research Center in Sports Sciences, Health Sciences and Human Development, Portugal, cvilacha@ipg.pt

Summary

Exergames are exercise-oriented games established as a method to overcome several of the reported barriers to physical activity (PA). An exergame was developed based on a grape harvesting context to promote PA among older adults regarding specific population needs. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of this exergame to stimulate PA using both qualitative and quantitative measures. Methods: Seven active old men (68.3 \pm 3.7 yrs.) performed the game composed by three phases. Accelerometry data and Heart Rate (HR) data were collected during the game. Before and after the game practice, brachial artery blood pressure (diastolic and systolic) as well HR were measured. Rate of perceived effort was measured at the end of the game (Borg scale). Results: Participants spent most of the exergame time performing moderate-to-vigorous. However the % of time in each intensity interval were dependent on the type of measurement applied. Changes in blood pressure and double product were maintained within a safe range. Conclusions: The results suggest that the exergame is a feasible and enjoyable method to adequately stimulate cardiorespiratory fitness among older adults.

Exergame; physical activity; accelerometry; hemodynamic response; older adults.

1. Introduction

The world population is getting older. The percentage of people above 65 years old represented almost 8% of world population in 2010 and it is estimated to double by 2050 [1]. Several changes are known to occur with ageing, leading to health issues and quality of life challenges. Physical activity (PA) has been identified as the single most important factor in maintaining independence and enhancing the quality of life in older adults [2]. Moreover, PA has been consistently linked to a reduction in all-cause of mortality, as well as lower rates of cardiovascular and metabolic diseases, such as hypertension and diabetes [3]. Despite these benefits, the sedentary lifestyle is currently becoming a worldwide public health problem and Portugal is no exception [4]. Therefore, PA promotion makes an invaluable contribution to the global public health agenda [5].

In recent years, with advances in technology, exercise videogames (Exergames) have emerged as an innovative approach to stimulate PA and they have increased their popularity between elder population. These games have been reported to promote PA in the older population [6]. Their attractiveness lies in the opportunity to increase motivation to exercise through fun and enjoyable activities [7]. Withal, they also can be adapted to the target population to satisfy age and/or health specific needs [8].

The exergame in spotlight on this study was designed to have an impact mainly on cardiorespiratory capacity (moderate-to-vigorous intensity), in agreement with ACSM guidelines to older adults [5]. Simultaneously, the exergame was planned to guarantee an entertaining way to exercise, by applying a context game that elderly people recognizes. A grape harvesting context was used, expecting to supply all these conditions.

Studies on exergames for elderly usually report qualitative measures focusing on users' perception [9]. The main objective of this study was to evaluate the effectiveness of the exergame design to stimulate cardiorespiratory system, regarding participants perception as well intensity quantified through physiological responses and accelerometry data.

2. Methods

Participants performed the exergame composed by three main phases. Accelerometry and HR data were taken during the game. Before and after the game practice, brachial artery blood pressure (diastolic and systolic) as well as HR were registered. A brief questionnaire on enjoyment and a scale on rate of perceived effort were applied at the end.

2.1. Subjects

The sample was composed by seven physically active old men, recruited from a communitary PA program (Guarda+65), aged between 64-74 years (mean 68.3 ± 3.7 yrs.) and the mean weight was 74.3 ± 8.3 kg. The medication and prevalence of diseases and injuries were controlled to ensure eligibility for the study.

All subjects gave their informed consent to the procedures of the study, which were conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the local ethics committee.

2.2. Exergame

The game was designed to simulate a grape harvesting context, having the following phases:

Phase 1 - Walking in the place; in the meanwhile the participant needed to grab equipment for the grape harvesting (gloves, scissors, basket, hat; and deviate from the obstacles (stones) that appear on the way (Fig.1 A));

Phase 2 - Four series of: (a) collecting grapes (the participant needs to pulse 6 lights that will light up randomly; Fig. 1B) + (b) putting the baskets in the winepress (each subject performs 4 squats each time); and

Phase 3 - Stepping on the grapes (15 steps - knees up) in four random places of grape winery (Fig. 1C).



Figure 1. Phases of the exergame.

2.3. Measures

Hemodynamic measurements

Before and after game practice, brachial artery blood pressure (diastolic and systolic) was measured with a digital device (Omron BP742N 5 Series). Heart rate (HR) was measured before, during and after the game with a heart rate band strip (POLAR® H7) connected to a smart watch (Garmin, Fenix model). Then, the files were downloaded and Heart Rate Reserve (HRR) was computed in Python (version 3.7), according to the Karvonen method [10]. Double product was computed before and after the game by multiplying the systolic blood pressure by heart rate.

Accelerometry

PA was measured during the game by using a triaxial accelerometer (Actigraph GT3X, ActiGraph LLC, Fort Walton Beach, FL).

The accelerometer provided activity counts, a device-specific arbitrary unit, which represents the

frequency and amplitude of acceleration events occurring over 5s epoch user activity during the game. These raw data were converted to useable information using intensity cut-points defined by Actigraph software (ActiLife, ActiGraph LLC, Fort Walton Beach, FL).

Questionnaire and perceived exertion scale

At the end of practice a questionnaire based on a Likert scale was applied to get participant's opinion on degree of entertainment (enjoyment), usefulness of the game to stay active and game context relevance (1 - very weak, 2 - weak, 3 - reasonable, 4 - good and 5 - very good).

Additionally, the perceived exertion during the exergame was evaluated by the participant in a linear scale (6-20) as described by Borg [11].

2.4. Statistic analysis

Descriptive statistics were expressed as mean \pm SD in the text and mean \pm SE in the figures. The U Mann-Whitney test was used to investigate the effects of the exergames on the hemodynamic variables.

3. Results and discussion

3.1. Game output

Overall, participants considered the game enjoyable and useful (Table 1). Moreover, the game context was considered motivating and interesting (6 participants considered Good to Very good; Table 1).

	Number of answers		
	Reasonable	Good	Very good
Degree of entertainment	1	1	5
Usefulness	1	2	4
Game context	1	2	4

Table 1. Participant's evaluation on the degree of entertainment, usefulness and context of the game.

On average, participants took 382.0 ± 122.9 s to complete all phases of the game. The fastest participant took 265s while the slowest one took 628s to successfully reach the end of the game. Table 2 shows the mean time spent in each game phase.

Phase 1	Phase 2a	Phase 2b	Phase 3
126.8 ± 78.9	31.5 ± 29.9	39.1 ± 35.6	78.2 ± 49.8

Table 2. Mean \pm SD of time (s) spent in each game phase.

As expected, phases 1 and 3 consumed more than 60% of the total time. These phases were designed to challenge the cardiorespiratory system through cyclic movements, requiring therefore prolonged periods of time to induce a physiological demand. On the other hand, phases 2a, 2b and 3 were planned to have an impact on time reaction, decision making and local muscle resistance, requiring short periods of stimulation. Table 3 presents the results on total number of repetitions and mean time per series for phases 2a, 2b and 3. During the game, the subjects performed, on average, 39.2 ± 20.4 steps per minute.

	Total reps (N)	Mean time per series (s)
Lights turned off (phase 2a - collecting the grapes)	18 (3*6 reps)	18.4 ± 2.6
Squats (phase 2b - drop the baskets)	11.9 ± 0.1 (4*3 reps)	22.2 ± 3.9
Knees up (phase 3 - stepping on the grapes)	60 (4*15 reps)	20.8 ± 10.5

Table 3. Mean \pm SD of the total number of repetitions and mean time per series of repetitions (s) in: phase 2a (pulsing the lights – decision making and time reaction); phase 2b (putting the baskets in the winepress – squats); phase 3 (stepping on the grapes – knees up).

Energy expenditure was computed from the accelerometer data through Chen equation, available at ActiLife software. The results showed that the exergame induced a consumption of 3.4 ± 1.0 METs. According to ACSM guidelines [5], for older adults, the present exergame is classified as a PA of moderate intensity, being in the same group of activities such as brisk walking, table tennis, or gardening. Nonetheless, the results were variable among the subjects, ranging between 1.8 and 5.2 METs.

3.2. Hemodynamic responses

The main hemodynamic responses induced by the exergame are shown in Figure 2. After playing the game, blood pressure and double product increased significantly. Despite a significant increase of systolic blood pressure and double product, such alterations do not represent a cardiovascular risk for this population.



Figure 2. Hemodynamic responses to the exergame. **p<0.001.

Heart Rate increased between 4 to 25% above baseline values (mean \pm SD: 13 \pm 7%), which were also within a safe range [5].

Heart Rate Reserve was computed to have a better understanding of the exergaming impact on physiological responses. Figure 3 shows the HRR for each subject, according to target training zones [5]: light (HRR> 40%); moderate (HRR between 40-59%) and vigorous (HRR between 60-89%).



Figure 3. Percentage of time spent by each subject in each target training zone (light, moderate and vigorous exercise). Target training zones were determined based on the Heart Rate Reserve.

The results indicate that, on average, 44.4 ± 32.7 % of the exergame time was spent in moderate-to-vigorous exercise. Nonetheless, and taking in consideration the HRR, 2 of the participants remained within a light training zone for the entire playing time. Although HR is a reliable parameter to measure exercise intensity, in older people this can be an issue. Some cardiovascular diseases are maintained stable with drug therapy. In these cases, medicine blocks the raise in HR that would be expected due to increases in physiological effort. Therefore, under these conditions, alternative measures are necessary.

Accelerometry data can be also used to estimate the intensity of the PA performed. While exergaming, the subjects were using the accelerometer strapped on the



right side of the hip. The main results are shown in Figure

4.

Figure 4. Percentage of time spent by each subject in each target training zone (light, moderate and vigorous exercise). Target training zones were determined based on accelerometer counts.

In comparison to HRR results, accelerometry data revealed different time expenditure by target training zones (Figures 3 and 4). Based on this data, the percentage of time at moderate-to-vigorous PA intensity was $68.9 \pm 20.5\%$. The main differences between measurement variables are in quantification of the light and moderate PA intensities. Perceived rate of effort is also an alternative to evaluate PA intensity. In the present study the subjective perception of effort ranged between 9 and 14 (mean \pm SD: 11.86 \pm 1.7). On average, intensity of the activity performed was not perceived by participants (mean value below moderate intensity level). These could be justified by the exergame design, which was designed to be an enjoyable activity that could mask the intensity while subjects were having fun performing the game. The results were in agreement with previous studies [7].

4. Conclusion

Recently, exergames are claimed to promote physical activity and improve health and physical function in older adults [7,9]. The present study suggests that the characteristics of exergame are able to induce in the participants a PA of moderate to vigorous intensity. Even for a short time period (8 ± 3 min), participants could be stimulated and spent more than half of the time of the exercise at intensities recommended by the ACSM [2]. In agreement with previous studies [6], this game presents an enjoyable activity with potential to icentivate PA.

The identification of exercise intensity was found different when supported by HRR, accelerometry or Borg Scale data. It could be explained by the sensitivity of HR measurements to the medication usually taken by this population and not always reported by them when inquired.

5. Aknowledgments

This study is co-funded by Interreg V-A Spain-PortugalCooperationProgramme(043 EUROAGE 4 E).

6. References

- United Nations. World Population Prospects: The 2010 Revision. http://esa.un.org/unpd/wpp (Consulted: August 2019).Doarn CR, Adilova F, Lam D. Review of telemedicine in Uzbekistan. *Journal of Telemedicine and Telecare*, vol 11, sup 3, 2005, pp 135-9 (ISSN: 1357-633X).
- [2] Nelson ME, Rejeski WJ, Blair SN, Duncan PW, Judge JO, King AC, Macera CA, Castaneda-Sceppa C. Physical activity and public health in older adults: Recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. Medicine and Science in Sports and Exercise Bd, 39, 8, 2015 (ISBN 0195-9131 (Print)).
- [3] Arem H, Moore SC, Patel A, Hartge P, Berrington A, Visvanathan K, Campbell PT, Freedman M. Leisure time physical activity and mortality: a detailed pooled analysis of the dose-response relationship. *JAMA internal medicine Bd.*, vol 175, 6, 2015, pp 959–67.
- [4] Harvey JA., Chastin SC, Skelton DA. Prevalence of sedentary behaviour in older adults: a systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol 10, 2013, pp 6645-61. doi:10.3390/ijerph10126645.
- [5] American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription, 10th Edition[1] [2]. Wolters, 2017 (ISBN: 9781496339072).
- [6] Larsen, LH, Schou L, Lund HH, Langberg H. The Physical Effect of Exergames in Healthy Elderly: A Systematic Review. *Games for Health Journal*, vol 2, 4, 2013, pp 205-12.
- [7] Cacciata M, Stromberg A, Lee J, Sorkin D, Lombardo D, Clancy S, Nyamathi A, Evangelista LS. Effect of exergaming on health-related quality of life in older adults: A systematic review. *International Journal of Nursing Studies*, vol 93, 2019, pp 30-40.
- [8] Malaka R. How Computer Games Can Improve Your Health and Fitness. in Games for Training, Education, Health and Sports. Springer, 2014, pp 1-7.
- [9] Webster D, Celik O. Systematic review of Kinect applications in elderly care and stroke rehabilitation. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, vol 11, 2014, p 108.
- [10] Karvonen MJ, Kentala E, Mustala O. The effects of training on heart rate: a longitudinal study. *Annales Medicinae Experimentalis et Biologiae Fenniae*, vol 35, 3, 1957, pp 307-15.
- [11] Borg G. Borg's perceived exertion and pain scales. Human Kinetics, 1998.

Estudio piloto de viabilidad acerca del uso de gafas de Realidad Virtual para la rehabilitación tras afecciones neurológicas

M. Álvarez Rodríguez¹, E. Benayas Martín¹, V. Lozano Berrio¹, S. Ceruelo Abajo², E. López Dolado², A. Gil Agudo², F. Talavera Díaz², A. de los Reyes Guzmán¹

¹Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Parapléjicos (SESCAM), Toledo, España, maalvarezrodriguez@externas.sescam.jccm.es, {vlozanob,adlos}@sescam.jccm.es

²Servicio de Rehabilitación, Hospital Nacional de Parapléjicos (SESCAM), Toledo, España, {sceruelo,elopez,amgila,ftalavera}@sescam.jccm.es

Resumen

Actualmente, hay un interés creciente en el uso de tecnología en el campo de la Neurorrehabilitación con el objetivo de cuantificar y generar conocimiento acerca de los trastornos sensorimotores tras enfermedades neurológicas, entendiendo que la tecnología posee un elevado potencial para su uso como herramientas terapéuticas. Además, las enfermedades neurológicas producen en la mayor parte de los casos trastornos discapacitantes que perduran durante toda la vida del paciente afectando a su calidad de vida y participación social. En este contexto, se entiende que el proceso rehabilitador de los trastornos motores se debe extender más allá de la fase de ingreso hospitalario del paciente, siendo necesario involucrar tecnología de bajo coste en el proceso de rehabilitación con el objetivo de contar con soluciones tecnológicas que se puedan aproximar al domicilio del paciente. Así, se cuenta con un prototipo software que, basado en aplicaciones virtuales manipuladas por medio de tecnología de bajo coste, como Leap Motion Controller, se ha diseñado y desarrollado para la rehabilitación de la destreza manipulativa de los miembros superiores en pacientes con afecciones neurológicas. Actualmente, existe una tendencia a incorporar metodologías inmersivas en los programas terapéuticos que reciben los pacientes, que ya han sido incorporadas por algunos centros clínicos. Por tanto, el objetivo de este trabajo es realizar un estudio piloto de viabilidad acerca del uso de gafas de realidad virtual en personas sanas y pacientes con enfermedad neurológica, de forma que en un futuro se pueda combinar esta modalidad terapéutica dentro del prototipo desarrollado.

1. Introducción

Actualmente, hay un interés creciente en el uso de tecnología en el campo de la Neurorrehabilitación con el objetivo de cuantificar y generar conocimiento acerca de sensorimotores tras los trastornos enfermedades neurológicas, entendiendo que la tecnología posee un elevado potencial para su uso como herramientas terapéuticas [1]. Sin embargo, estas tecnologías, tanto la robótica como la basada en redes de sensores, no poseen actualmente una verdadera implantación en la práctica clínica diaria por varios motivos. Uno de ellos, de elevada importancia, es el elevado coste que poseen, que reduce su ámbito de aplicación únicamente al de los centros de rehabilitación especializados.

Por otro lado, las enfermedades neurológicas producen en la mayor parte de los casos trastornos discapacitantes que perduran durante toda la vida del paciente afectando a su calidad de vida, nivel de independencia en ejecución de actividades de la vida diaria y participación social. Un ejemplo, es la lesión medular cervical, que carece de un proceso curativo completo y en la que la fuerza residual de músculos parcialmente paralizados es un importante determinante para poseer independencia y funcionalidad en los miembros superiores [2]. En este contexto, se entiende que el proceso rehabilitador se debe extender más allá de la fase de ingreso hospitalario del paciente, siendo necesario involucrar tecnología de bajo coste en el proceso de rehabilitación con el objetivo de contar con soluciones tecnológicas que se puedan aproximar al domicilio del paciente. La tecnología unida al uso de aplicaciones virtuales permitiría la ejecución de ejercicios terapéuticos de la intensidad y número de repeticiones necesarias para inducir la neuroplasticidad, proporcionando las fuentes de feedback necesarias como para motivar y asegurar la adherencia del paciente a las tareas [3]. Además, existe una tendencia al diseño y desarrollo de entornos virtuales inmersivos para rehabilitación motora. Sin embargo, antes de adoptar estos entornos con un propósito rehabilitador, es necesario determinar la equivalencia cinemática entre los movimientos realizados en el entorno virtual con aquéllos realizados en entornos físicos reales. Este aspecto es especialmente importante en los movimientos de alcance y agarre, que dependen de la información acerca del objeto a manipular con el objetivo de planificar las trayectorias de alcance y el tipo de agarre. Este estudio se realizó en personas sanas utilizando head-mounted display junto con guantes como Cybergrasp y Cyberglove y un equipo de fotogrametría para analizar la cinemática [4].

Actualmente, esta modalidad inmersiva se está poniendo en práctica en algunos centros clínicos para el tratamiento de enfermedades neurológicas como Daño Cerebral Adquirido, con el objetivo de trabajar aspectos relacionados con la atención, percepción y control motor dentro de entornos realistas que simulan situaciones y actividades del día a día [5]. Sin embargo, pese a la realización de estudios en muestras de pacientes, es todavía mucha la investigación necesaria, en términos de efectividad, para poder utilizar estas terapias consistentemente con un propósito rehabilitador, y en términos de viabilidad en cuanto a la duración óptima de estas terapias.

Desde el Hospital Nacional de Parapléjicos, entendemos que las terapias virtuales son el presente y el futuro, en complemento con las terapias convencionales, de forma que se ha desarrollado un prototipo software para rehabilitación del miembro superior. Consiste en una serie de aplicaciones virtuales manipuladas por medio de Leap Motion Controller (LMC) para la rehabilitación de los aspectos motores de los miembros superiores en pacientes con afecciones neurológicas. Actualmente se está validando en cuanto a funcionalidad y usabilidad en una muestra de pacientes con lesión medular cervical. El objetivo del trabajo que aquí se presenta es adaptar una de estas aplicaciones virtuales para su interacción por medio de HTC Vive junto con LMC y realizar un pequeño estudio de viabilidad en un grupo reducido de personas sanas y pacientes con afectación de la función de los miembros superiores.

2. Métodos

2.1. Prototipo software para rehabilitación motora

Este prototipo se ha diseñado y desarrollado mediante la participación colaborativa y coordinada de un equipo multidisciplinar de trabajo formado por médicos, terapeutas ocupacionales e ingenieros. A partir de los requisitos clínicos y necesidades en el paciente definidas por el personal clínico se han definido y desarrollado distintos entornos virtuales. El contenido de las aplicaciones está orientado a lograr tareas funcionales completas que requieren la realización de gestos y movimientos del miembro superior y, en concreto de la mano, que son necesarios rehabilitar en el paciente para una mejora de la destreza manipulativa. Un ejemplo de estas aplicaciones se muestra en la Figura 1. El dispositivo de interacción con los entornos virtuales es el LMC. El desarrollo se ha realizado utilizando el motor de videojuegos Unity3D y la SDK de LMC (versión 2.3.1).



Figura 1.Aplicación virtual Laboratorio, manipulada mediante LMC para trabajar alcance y manipulación de objetos y pronación-supinación del antebrazo

Así, aspectos terapéuticos a trabajar dentro de las aplicaciones son distintos tipos de pinza, capacidad de agarre, prensión, coordinación bimanual, así como los movimientos de flexión-extensión de la muñeca y pronación-supinación del antebrazo.

Cada aplicación virtual está dotada de las fuentes de feedback visual y auditivo que necesita el paciente para apreciar su propia mejoría tras sesiones consecutivas (tiempo de ejecución, número de objetivos alcanzados, barra de progresión para mantener el gesto de pronaciónsupinación del antebrazo). Además, aquellas tareas que consisten en lograr el mayor número posible de objetivos en un tiempo determinado, disponen de una barra de progresión en la que se refleja el desempeño realizado relativo a un patrón de referencia formado por un grupo de personas sanas (Figura 1).

2.2. Versión del "Laboratorio" basada en RV inmersiva

Para lograr el objetivo de este trabajo, se ha desarrollado una versión de la aplicación del Laboratorio, basada en RV inmersiva, a partir de la aplicación previa del prototipo desarrollado, en el que se usaba la versión 2.3.1 de la SDK de Leap Motion, para que fuera compatible con el resto de juegos del prototipo. Esta nueva versión inmersiva se manipula por medio de las gafas de RV HTC Vive.

Se utilizaron los assets de SteamVR para adecuar el juego al uso de las gafas y los controller de las gafas HTC vive para controlar el juego. También se adaptaron los elementos de la interfaz de usuario para poder usarlos con el controlador.

Se ha desarrollado en un ordenador Lenovo, con un procesador Intel(R) Core(TM) i7-7500 CPU 3GHz, de 16 GB de RAM y tarjeta gráfica Nvidia GeForce GT 1050. Después se ha ejecutado en un ordenador HP, Intel(R) Core(TM) i5-8500 CPU 3GHz, de 8 GB de RAM y tarjeta gráfica Nvidia GeForce GT 1030.

2.3. Intervención

En este estudio piloto de viabilidad han participado 9 personas (6 personas sanas y 3 pacientes con afectación de la función de los miembros superiores). A continuación, se describe las características de la lesión de los 3 pacientes:

- Caso 1: paciente varón de 22 años que padece una lesión medular de nivel metamérico C6, incompleta en los aspectos motor y sensitivo (ASIA D), actualmente de dos años de evolución.
- Caso 2: paciente varón de 19 años que padece una lesión medular de nivel metamérico C4, completa en los aspectos motor y sensitivo (ASIA A) con zona de preservación parcial hasta C5.
- Caso 3: paciente en edad pediátrica (12 años) que padece una tetraparesia de nivel pontino secundaria a absceso cerebral amebiano e infarto hemorrágico de hemiprotuberancia izquierda, tálamo derecho e izquierdo.

La intervención se realiza en un solo día. Todos los participantes, con excepción de 3 personas sanas, realizaron previamente entre 6 y 9 sesiones experimentales con el prototipo de aproximadamente 30 min de duración cada una. Esta fase experimental previa servía, en parte, como aclimatación a la aplicación virtual

inmersiva, cuyo objetivo terapéutico era exactamente el mismo que el de la versión inmersiva. La tarea consistía en alcanzar, coger y manipular una serie de botes y probetas de forma que hay que verter el contenido en el recipiente central. Aparece una barra de progresión de manera que ésta se va completando si se realiza el movimiento de pronación-supinación del antebrazo que simula verter el contenido. Las cápsulas directamente se depositan dentro del recipiente. Un total de 8 objetos tienen que ser alcanzados y transportados al recipiente central para completar la tarea.

Todos los participantes tenían que cumplir los criterios de inclusión y firmar el correspondiente modelo de consentimiento informado. Los participantes realizaron la prueba en sedestación. Los pacientes usuarios habituales de silla de ruedas realizaron la prueba en su propia silla. La duración de la prueba fue de aproximadamente 10 minutos para cada persona.

2.4. Variables analizadas

Por tratarse de un estudio de viabilidad, las variables en las que se expresarán los resultados son las relativas al desempeño completo de la tarea solicitada en el entorno virtual, así como la percepción subjetiva del participante en cuanto a su nivel de tolerancia con la tecnología y la tarea virtual inmersiva propuesta, además de su percepción acerca del uso de esta modalidad terapéutica inmersiva como complemento a la terapia basada en LMC propuesta en el prototipo previo y las terapias convencionales.

3. Resultados

En este apartado se describen los principales resultados.

En cuanto al porcentaje de desempeño en el entorno virtual inmersivo propuesto, el 50% de las personas sanas lograron completar la tarea en el nivel de dificultad propuesto que exige la manipulación de 8 objetos (Figura 2); dos pacientes consiguieron completar la tarea. En concreto uno de ellos, el correspondiente al Caso 1, consiguió completarlo 3 veces en los 10 min de prueba.



Figura 2. Persona sana realizando la actividad terapéutica inmersiva mediante gafas RV y LeapMotion

En relación con la tolerancia de los participantes a la tecnología utilizada y al uso de un entorno inmersivo, ningún participante experimentó mareo o algún tipo de efecto adverso durante la realización de la prueba, ni en lo sucesivo durante el día de experimentación.

4. Discusión

En este trabajo se presenta la adaptación de una de las aplicaciones virtuales de escritorio del prototipo basado en LMC a una aplicación similar que, bajo el mismo contenido terapéutico, se pueda manipular mediante gafas de RV y LMC. En este trabajo se han utilizado las gafas HTC Vive. En otros trabajos encontrados en la literatura se ha utilizado head-mounted display. A pesar de los estudios de viabilidad y efectividad todavía necesarios para su aplicación como soluciones terapéuticas en el entorno clínico, algunos centros ya han empezado a utilizar estas terapias con pacientes, sobre todo aplicadas al tratamiento de DCA [5].

Desde nuestro centro, también se ha detectado la necesidad de incorporar estas tecnologías al tratamiento de pacientes, de forma que se ha planteado la realización de este estudio piloto de viabilidad en el que han participado 6 personas sanas y 3 pacientes con afectación de la función de los miembros superiores. El resultado obtenido ha sido satisfactorio en cuanto a la tolerancia y aceptación de la tecnología inmersiva. Este estudio es imprescindible dada la información que comerciantes de este tipo de tecnologías ofrecen al consumidor en cuanto a la aparición de posibles efectos adversos. Un ejemplo es la información que muestra Amazon relativa a los dispositivos de Realidad Virtual, como es el caso de Oculus Rift, avisando del riesgo a que el usuario experimente una sensación de mareo conocida como "Motion sickness". Este hecho no se debe a que el producto esté defectuoso, sino más bien a que no todos los usuarios son aptos para su uso [8]. En este sentido, dentro del estudio que aquí se presenta, ningún participante ha experimentado sensación de mareo. Una ventaja es que este estudio se realiza en sedestación, lo que implica que no se utilizan las gafas al límite máximo de su funcionalidad, minimizando el riesgo de aparición de motion sickness.

En lo relativo al desempeño dentro de la tarea, 5 participantes, sanos y pacientes, consiguieron completar la tarea dentro del período de prueba. Estos participantes realizaron previamente entre 6 y 9 sesiones experimentales con el prototipo previo, ejecutando en muchas ocasiones la aplicación del Laboratorio por medio de LMC. Se puede decir así, que estos participantes habían experimentado una aclimatación previa con la aplicación y con la tarea terapéutica a completar, aunque no fuese a través del entorno inmersivo. El 50% de la muestra de sanos que no completó la tarea no había tenido contacto previo con el prototipo.

Otro aspecto que es importante destacar, corresponde a la duración de la actividad terapéutica en este estudio piloto de viabilidad. Las gafas HTC Vive tienen un peso de 555g. Esta característica de la tecnología, unida a que los pacientes con lesiones cervicales presentan menos fuerza en la cabeza, obliga en principio a limitar la duración de estas terapias. En este estudio inicial la duración ha sido de aproximadamente 10 min en cada participante. Lo ideal para acciones y estudios futuros es usar esta nueva modalidad terapéutica en combinación con la terapia

virtual de escritorio propuesta en el prototipo ya desarrollado, e ir incrementando la dosis de terapia inmersiva en función de la tolerancia del paciente.

No obstante, este estudio presenta limitaciones importantes. El entorno inmersivo se ha desarrollado a partir de la aplicación previa para LMC que utiliza la SDK de LMC versión 2.3.1. Esto ha producido que al utilizarse un entorno inmersivo, las deficiencias en el modelo de la mano y en los modelos de agarre y manipulación de objetos sean más visibles, traduciéndose en una experiencia, en ocasiones, frustrante. Este hecho hace patente la necesidad de seguir invirtiendo esfuerzo en adaptar, mejorar y optimizar las aplicaciones virtuales desarrolladas para LMC, para que puedan ser adecuadamente manipuladas por medio de las gafas de RV y LMC, utilizando la SDK óptima, Orion.

5. Conclusiones

El estudio de viabilidad realizado en una muestra de personas sanas y en pacientes con afectación de la función de los miembros superiores ha sido satisfactorio en cuanto a la tolerancia de los participantes con la tecnología utilizada, en este caso las gafas de realidad Virtual HTC Vive y Leap Motion.

Los siguientes pasos deben ser la reprogramación software de las aplicaciones virtuales que componen el prototipo previamente desarrollado para poder hacer un estudio comparativo de las terapias virtuales ofrecidas a través de aplicaciones de escritorio con aquéllas inmersivas proporcionando entornos más realistas.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del Proyecto "Plataforma de bajo coste para rehabilitación del miembro superior basado en Realidad Virtual" 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] Shirota C, Balasubramanian S, Melendez-Calderon A. Technology-aided assessments of sensorimotor function: current use, barriers and future directions in the view of different stakeholders. *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, *16*(1), 2019, 53.
- [2] Yozbatiran N, Francisco GE. Robot-assisted Therapy for the Upper Limb after Cervical Spinal Cord Injury. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics*, 2019, 367–384. <u>https://doi.org/10.1016/j.pmr.2018.12.008</u>
- [3] Dimbwadyo-Terrer I, Gil-Agudo A, Segura-Fragoso A, de los Reyes-Guzmán A, Trincado-Alonso F, Piazza S, Polonio-López B. Effectiveness of the virtual reality system Toyra on upper limb function in people with tetraplegia: a pilot randomized clinical trial. *BioMed research international*, 2016.
- [4] Magdalon EC, Michaelsen SM, Quevedo AA, Levin MF. Comparison of grasping movements made by healthy subjects in a 3-dimensional immersive virtual versus physical environment. *Acta psychologica*, 138(1), 2011, 126-134.
- [5] Fundación Lescer. <u>https://www.centrolescer.org/centro-lescer/la-realidad-virtual-al-servicio-de-la-neurorehabilitacion/ (Consultada: Junio 2019).</u>
- [6] Leap Motion Controller. <u>https://www.leapmotion.com/</u> (Consultada: Mayo 2019).
- [7] VIVE™ | Discover Virtual Reality Beyond Imagination. https://www.vive.com/eu/ (Consultada: Junio 2019).
- [8] Oculus Rift en Amazon. <u>https://www.amazon.es/Oculus-Rift-Sistema-realidad-exposiciones/dp/B00ZFOGHRG/ref=pd_sbs_63_5/257-4835547-0527902?_encoding=UTF8&pd_rd_i=B00ZFOGHRG&pd_rd_rel12a70af4-6f2e-47c3-a71b-f01dc7cb7f4e&pd_rd_w=9aS5c&pd_rd_wg=AG0rK&pf_r_d_p=f9384d3f-fa3d-4e25-8bc3-b0c7853cd8a6&pf_rd_r=TKPDYFDNS0YGA9JNNG2C&psc=1&refRID=TKPDYFDNS0YGA9JNNG2C</u>

(Consultada: Julio 2019).

Repeatability of calibration process of a multi-field FES device for compensation of foot drop

A. Martin¹, A. Aranguren¹, E. Imatz-Ojanguren², H. Zabaleta¹, T. Keller²

¹ Fesia Technology, Donostia, España {aitor.martin, adriana.aranguren, haritz.zabaleta}@fesiatechnology.com ² TECNALIA, Derio, España, {eukene.imatz, thierry.keller}@tecnalia.com

Abstract

Foot drop is the inability of lifting the front part of the foot, which results in an impaired gait. Functional electrical stimulation (FES) can compensate this impairment and it consists of exciting specific motor nerves by means of electrical stimuli aiming to produce ankle movements in the right phases of the gait. The manual placement of conventional FES surface electrodes requires clinical knowledge and is time consuming. To solve this problem, multi-field based FES devices have been proposed, which allow an automatic calibration procedure. This pilot study attempts to analyze the repeatability of a calibration algorithm of a commercial multi-field technology-based FES device. 4 healthy subjects participated in the study, where different calibrations were held within the same day, different days and at different body postures. An association analysis was carried out with the categorical class values assigned by the classification algorithm to each of the fields. First, an independent pairwise analysis was carried out for each day, subject and posture. Then, the same analysis was carried out grouping the data for all postures and for all days. Results show that, in general, the calibrations carried out within the same day were repeatable, whereas there was a high intra-subject variation with calibrations carried out in different days. In addition, differences were found between calibrations carried out with extended or flexed knee.

1. Introduction

Foot drop is the inability or difficulty to lift the foot due to weak or absent ankle dorsiflexors. It is commonly caused by neurological diseases such as stroke, multiple sclerosis, spinal cord injury, cerebral palsy or traumatic brain injury [1]. These patients usually adopt a steppage or equine gait, being some of the consequences longer stance phases, decreased speed and increase of the risk of falls [2]. That is why the most important component of rehabilitation for independent and functional activities in daily living, community-dwelling, and social environments is correcting the abnormalities of hemiplegic gait [3].

Functional electrical stimulation (FES) is one of the options for treating foot drop, and it is about providing short bursts of electrical pulses to induce an action potential in the motor neurons that innervate a muscle, producing a contraction [4]. FES-based devices used for foot drop treatment stimulate the common peroneal nerve to ensure the dorsiflexion [5]. There are some stimulators which also produce plantar flexion, resulting in better knee flexion and better swing phase [6].

Usually, in foot drop FES applications, motor-points are determined manually, which requires a big clinical

experience and may be time-consuming. To solve this problem, multi-field surface electrodes can be used, improving the selectivity of stimulation and providing easier and faster electrode donning and doffing [7]. These electrodes comprise several small stimulation fields, and each of them can be activated separately or as a part of a stimulation pattern. Another advantage of multi-field electrodes is that the motor-point search process can be carried out automatically by means of a calibration process involving sensors [8]. Although the electrode location is ensured to be the same, there might be slight variations in motor-point locations and stimulation parameters from day to day [8], thus, daily calibrations may be necessary in some cases.

In this pilot study we present a repeatability analysis of an automatic calibration algorithm during repeated calibrations within the same day and between different days using a commercial multi-field technology-based FES device. Different calibration postures were also studied to check if these affect the repeatability results of the calibration algorithm.

2. Methods

2.1. Material

The Fesia Walk system (Fesia Technology, Donostia - San Sebastián, Spain) is one of the FES devices used for foot drop, delivering a train of biphasic pulses of different widths and amplitudes to different fields of the electrodes in an asynchronous manner [8]. The system, shown in Figure 1, consists of a stimulating unit, garment with integrated multi-field electrode, wireless inertial sensor and tablet PC with application.



Figure 1. Fesia Walk System (Fesia Technology, Donostia - San Sebastián, Spain). a FES-assisted gait. b Electrical stimulator, sensor, multi-field electrode and garment.

263

The calibration process of the Fesia Walk consists on the activation of each of the 16 electrode fields individually with different stimulation intensities. The sensor comprises a gyroscope and an accelerometer, is placed on the foot and is used to measure the foot movements elicited in response to the stimuli applied to each field. Each of the resulting movement is then assigned by the classification algorithm to one of the 4 movement groups (eversion, inversion, dorsiflexion or plantarflexion).

2.2. Protocol

Four volunteer healthy subjects between 28 and 35 were included in this study. The laterality was right for 2 of them and left for the other 2. All the participants signed an informed consent.

This study was held during 5 days and 3 different calibration postures were included in the study:

- Posture 1: sitting on top of a table or stretcher with knee at 90 degrees and foot not touching the floor.
- Posture 2: sitting on top of a table or stretcher with knee extended and ankle and foot hanging freely.
- Posture 3: sitting in a chair with both knees extended and crossing the legs with the affected ankle on top of the healthy ankle.

For each of these calibration postures (in random order) 5 calibrations were carried out daily with the following resting times between them:

- Calibration 1.
- Calibration 2.
- Rest 1 minute (rest in the same posture).
- Calibration 3.
- Rest 2 minutes (rest included moving/walking).
- Calibration 4.
- Rest 5 minutes (rest included moving/walking).
- Calibration 5.

Between different postures, a minimum of 10 minutes of rest were set to avoid fatigue affecting the results.

So, 5 calibrations x 3 postures were held daily during 5 days with 4 people.

Stimulation waveform was biphasic compensated, and parameters were set to frequency 25 Hz and pulse width 250 μ s. Anodes were fixed and set centered below the patella during all the study.

The amplitude was set for each day and posture. It was set at 10mA above motor threshold if tolerated by the subject, otherwise above motor threshold at subject's tolerance. Motor threshold was defined as the minimum amplitude at which foot movement was visually appreciated with at least one of the fields.

2.3. Repeatability analysis

An association analysis was carried out with the categorical class values assigned by the classification algorithm to each of the fields. The Cramer's V was calculated for each pairwise combination, which is a measure of association between two categorical/nominal variables. Additionally, the Fisher's exact test was also

applied to the same pairwise combinations to find the significance of the corresponding association values.

First an independent pairwise analysis was carried out for each day, subject and posture. Then the same analysis was carried out grouping the data for all postures and another analysis grouping the data for all days.

3. Results

3.1. Association analysis

The aim of the association analysis was to find the similarity in terms of class values across different calibrations of the same day, across different days and across different postures. In the following figures we can see the Cramer's V coefficient across different calibrations of the same day for each subject, each day and each posture. The association coefficient is represented by circles, where bigger circles represent higher association values, and smaller circles represent lower association values. Yellow crosses mark the non-significant associations with p>0.05. As an illustration we present the association matrices of all postures for the four subjects.

If we analyze the figures, we can see that the association matrices are very dependent on subjects and postures. When calibrations were held in Posture 1 (Fig. 2), we could see that the association of the class values between different calibrations held within the same day were not significant (many yellow crosses) in many cases.



Figure 2. Association matrices for posture 1.

If we check at the calibrations held in Posture 2 (Fig. 3), we can see that the number of cases where different calibrations showed low association values decreased. In total, there were 6 cases where at least one pair of different calibrations showed a non-significant association.



Figure 3. Association matrices for posture 2.



Figure 4. Association matrices for posture 3.

Finally, checking at the calibrations held in Posture 3 (Fig.4), the repeatability of the calibrations in some specific cases such as subject 1 and subject 4 was not very good, as no association was found (p>0.05) in most pairwise calibration combinations. In total there were 7 cases where at least one pair of different calibrations showed a non-significant association.

If we analyze these figures by subjects, we can see that in general all showed worse association values with Posture 1. Subjects 1, 2 and 4 showed more repeatable calibrations with Posture 2 than with Posture 3, whereas Subject 3 showed better results with Posture 3 than with Posture 2.

Extended association matrices of different postures within the same day were calculated to see the association between calibrations carried out in different postures. Due to space constraints, as an illustration we present the correlation matrix of the 5^{th} day for Subject 1 (Fig. 5). This trend was present in most of the analyzed cases, where it can be seen that association values between Postures 2 and 3 were higher than Posture 1 with any of them.



Figure 5. Association matrix for all postures. Subject 1-Day 5.

Finally, extended association matrices were calculated to see the association between calibrations carried out in different days. As an ilustration we present the association matrices of the Posture 2 for Subject 1 (Fig. 6) and of the Posture 1 for Subject 3 (Fig. 7).

In these figures it can be appreciated that, in general, the repeatability of the calibrations carried out in the same day is higher than the repeatability between different days. Although some significant association values can be also appreciated between calibrations carried out in different days (Fig. 6). However, this trend was not so clear in the Posture 1, where the association values between different days are lower, while the ones within the same day are maintained (Fig. 7).



Figure 6. Association matrices for all days. Subject 1-Posture 2.



Figure 7. Association matrices for all days. Subject 3-Posture 1.

4. Conclusions

As we stated earlier, the aim of this study was to find the repeatability of the classification algorithm during repeated calibrations within the same day and between different days and postures.

In general, slightly more repeatable results were found with posture 2 than with Posture 1 or Posture 3 in calibrations carried out within the same day. This could be due to the fact that Posture 2 may be easier to reproduce, whereas Posture 1 and Posture 3 can be more difficult to reproduce exactly the same way even giving clear instructions to the subjects. And thus, the calibration results may differ due to different foot/sensor positioning.

If we check the association values of the calibrations carried out in different postures, we found that these were low between Postures 1 and Postures 2 and 3. This effect can be caused because of the character of the postures themselves. In Posture 1, the calibration was carried out with the knee flexed at 90°, whereas in Postures 2 and 3, the knee was completely extended. When the knee is flexed, the relative position between the electrodes and the tibial and peroneal nerves can change, therefore, the same stimulation intensity and location might lead to different foot movements and therefore, different calibration results.

Association analyses showed that the repeatability of calibrations held during the same day vary depending on the subject, although in general high association values were found between calibrations carried out during the same day.

Regarding repeatability between calibrations held in different days, in general, non-significant associations were found, especially in Posture 1. This variability could be caused by small deviations in the electrode positioning, deviations on the sensor position, different skin state (hydration, hair...), different gel conductivity, etc.

To sum up, we conclude that in general the calibrations carried out within the same day were repeatable, whereas

there was a high intra-subject variation with calibrations carried out in different days. Additionally, non-significant associations were found between calibrations carried out with extended or flexed knee, where the posture involving a flexed knee showed worse association results. Taking into account that, indeed, FES will be applied during gait (knee mostly extended) in this application, we can conclude that a posture with an extended knee might be more suitable for calibration.

This pilot study should be carried out in a bigger population and preferably with people with neurological disorders in order to confirm the present conclusions.

Further research is necessary to elucidate the repeatability of calibration process of multi-field FES devices for compensation of foot drop.

ACKNOWLEDGMENT

This work has been supported in part by FIK.

REFERENCES

- Graham J. Foot drop: explaining the causes, characteristics and treatment. *British Journal of Neuroscience Nursing*, vol 6, sup 4, 2010, pp 168–172 (ISSN: 2052-2800).
- [2] Perry J, Davids JR. Gait analysis: normal and pathological function. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, vol 12, 1992, pp 815 (ISSN: 0271-6798).
- [3] Liu W. A narrative review of gait training after stroke and a proposal for developing a novel gait training device that provides minimal assistance. *Topics in Stroke Rehabilitation*, vol 25, sup 5, 2018, pp 375-383 (ISSN: 1945-5119).
- [4] Bajd T, Kralj A, Štefančič M, Lavrač N. Use of functional electrical stimulation in the lower extremities of incomplete spinal cord injured patients. *Artificial Organs*, vol 23, 1999, pp 403-409 (ISSN: 1525-1594).
- [5] Renfrew L, Paul L, McFadyen A, Rafferty D, Moseley O, Lord AC, Bowers R, et al. The clinical- and costeffectiveness of functional electrical stimulation and anklefoot orthoses for foot drop in Multiple Sclerosis: a multicentre randomized trial. *Clinical Rehabilitation*, 2019, vol 33, sup 7, pp 1150-1162 (ISSN: 1477-0873).
- [6] Embrey DG, Holtz SL, Alon G, et al. Functional electrical stimulation to dorsiflexors and plantar flexors during gait to improve walking in adults with chronic hemiplegia. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol 91, sup 5, 2010, pp 687-696 (ISSN: 0003-9993).
- [7] Koutsou AD, Moreno JC, Del-Ama AJ, Rocon E, Pons JL. Advances in selective activation of muscles for non-invasive motor neuroprostheses. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, vol 13, sup, 1, 2016, pp 1-12 (ISSN: 1743-0003).
- [8] Malešević J, Dedijer-Dujović S, Savić AM, Konstantinović L, Vidaković A, Bijelić, G, Malešević N, et al. A decision support system for electrode shaping in multi-pad FES foot drop correction. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, vol 14, sup 1, 2017, pp 1–14 (ISSN: 1743-0003).

Diseño e implementación de un sistema electrónico para la monitorización de la marcha en personas con lesión medular

Á. Gutiérrez-Tenorio¹, B. Larraga-García¹, A.J. del-Ama^{2,3}, Á. Gutiérrez¹

¹ ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid. España,

{alvaro.gutierrez.tenorio}@alumnos.upm.es, {blanca.larraga, a.gutierrez}@upm.es

² Unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas, Hospital Nacional de Parapléjicos, Toledo, España

³ Área de Tecnología Electrónica. Universidad Rey Juan Carlos. Móstoles, España, {antonio.delama}@urjc.es

Resumen

La recuperación de la marcha es una parte fundamental de las sesiones de rehabilitación en personas con lesión medular con pronóstico de recuperación de marcha. Con los avances en la tecnología y, en particular, en la biomecánica, la utilización de dispositivos para el restablecimiento de la marcha es cada vez más utilizada en el ámbito clínico. Entre los dispositivos utilizados para este fin se encuentran los exoesqueletos robóticos, estructuras robóticas con diferentes articulaciones y actuadores en cada articulación que permiten rehabilitar también la capacidad de andar. La realización de este trabajo surge de la necesidad detectada en la unidad de Biomecánica y Ayudas Técnicas en el Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo para la monitorización a pacientes durante diferentes pruebas de la marcha. Por lo tanto, se establece como objetivo el diseño y la implementación de un sistema electrónico capaz de monitorizar la marcha mediante la extracción de datos del exoesqueleto Exo-H2 y de los diferentes dispositivos usados en dichas pruebas.

1. Introducción

Una lesión medular es cualquier alteración de la médula espinal que supone una interrupción de las vías de conexión neurológica que van desde el cerebro hasta el resto del cuerpo. El origen de esta lesión puede ser por causas congénitas, traumáticas o enfermedad. Según la localización y grado de la lesión medular, las consecuencias de la lesión pueden ir desde una pérdida parcial de la función sensitiva y motora, hasta una pérdida total de las mismas [1].

Dependiendo de su extensión, la lesión puede ser completa cuando se interrumpen todas las conexiones medulares por debajo del lugar de la lesión; o incompleta, en la que persiste parcial o totalmente la función motora y sensitiva [1]. Una de las formas más extendidas de catalogar las lesiones medulares es según su localización, mediante los términos paraplejia, que se asocia a la lesión medular en la que se ha perdido la sensibilidad y capacidad motora del tren inferior del cuerpo; y tetraplejia, asociada a la pérdida de las capacidades sensitiva y motora del tren inferior.

En la actualidad, según el Instituto Nacional de Estadística (INE), hay un 2.56 ‰ de la población española afectada por una lesión medular, lo que supone alrededor de 108.200 habitantes españoles [2]. Gracias a los avances médicos y tecnológicos de los últimos años, la esperanza de vida de estas personas ha incrementado de forma notable, llegando incluso a igualarse con la del resto de la población [3].

Con los avances en la tecnología y, en particular, en la biomecánica, la utilización de dispositivos en las sesiones de

rehabilitación para el restablecimiento de la marcha es cada vez más empleada en el ámbito clínico. Las aplicaciones de las nuevas tecnologías a la biomecánica van más allá de los instrumentos de medida. También forman parte de ellas sistemas expertos en clasificación y análisis de datos. Las principales utilidades de estos sistemas son el control evolutivo de pacientes, la valoración del daño corporal y la planificación de tratamientos rehabilitadores, quirúrgicos o farmacológicos.

En las sesiones de rehabilitación para restablecer la marcha pueden utilizarse diferentes dispositivos, tales como neuroprótesis y exoesqueletos robóticos. Cada uno de estos sistemas proporciona información de manera diferente, haciendo necesaria la unificación de los datos obtenidos mediante una electrónica específica. Es en este campo donde se enmarca este trabajo, diseñando e implementando una electrónica de propósito general que permita extraer datos en tiempo real del exoesqueleto Exo-H2 [4, 5].

El resto del artículo está organizado de la siguiente manera: la Sección 2 presenta una descripción general del exoesqueleto Exo-H2. La Sección 3 explica el procedimiento realizado para el diseño y la implementación del sistema electrónico. La Sección 4 muestra el proceso de validación del sistema y los datos obtenidos en él. Por último, la Sección 5 presenta las conclusiones de este proyecto.

2. Exoesqueleto Exo-H2

Un exoesqueleto robótico es una estructura externa que los pacientes pueden superponer a su cuerpo y son controladas para alimentar un sistema de motores que tiene como función ayudar en la rehabilitación de la marcha [6].

Los exoesqueletos han surgido como una herramienta de rehabilitación ventajosa para individuos con lesión medular. En comparación con los paradigmas ya existentes sobre entrenamiento locomotor, los exoesqueletos pueden ofrecer tanto independencia como establecimiento de patrones de marcha incrementando fuerzas en caso de que sea necesario para realizar ciertos movimientos [7].

Actualmente existen varios modelos de exoesqueletos evaluados para el ámbito clínico como el ReWalk, Vanderbilt exoeskeleton, Locomat, Ekso, Kinesis y Exo-H2 [8]. El Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo (HNPT) dispone de un Exo-H2 para realizar las sesiones de rehabilitación y análisis de la marcha.

El Exo-H2 es un exoesqueleto que ha sido diseñado para 267 permitir un entrenamiento intensivo de marcha. Éste habilita

el entrenamiento longitudinal de la marcha en pacientes con lesión medular. Es un sistema seguro y robusto que abre la oportunidad a estudiar posibles formas de optimizar el proceso de rehabilitación. Cuenta con seis articulaciones motorizadas, incluyendo cadera, rodilla y tobillo en ambas piernas. Hasta la fecha, no existe otro exoesqueleto ambulatorio utilizado para rehabilitación con el tobillo motorizado. Además de los motores, cuenta con 6 potenciómetros, 18 sensores de efecto Hall, 24 galgas extensiométricas y 4 interruptores de pie. Un conjunto de baterías de polímero de litio recargables alimenta el exoesqueleto (ver Figura 1).



Figura 1. Arquitectura de red del Exo-H2 [8].

El Exo-H2 presenta una arquitectura abierta que permite ser integrada con otros dispositivos o sistemas. Para este objetivo, el exoesqueleto cuenta con comunicación cableada (tecnología CAN) [8].

3. Diseño e implementación del sistema

Para llevar a cabo la elaboración del sistema electrónico, se deben seleccionar las plataformas de desarrollo que se adecuen a las necesidades del HNPT: que cuenten con un módulo transceptor CAN para el exoesqueleto y con entradas analógicas y digitales para poder integrar diferentes dispositivos en las pruebas de rehabilitación y muestrear los valores que estos proporcionan. Se consideran sensores de fuerza, sensores de presión o señales de disparo externas, entre otras. El Exo-H2 nos permite obtener información de posiciones, fuerzas y pares de fuerzas de todas las articulaciones: tobillo, rodilla y cadera.

Tras la selección de plataforma, es necesario diseñar un software que se encargue de recibir y descodificar los mensajes recibidos con el protocolo CAN y de muestrear y almacenar los valores de las entradas analógicas y digitales.

Por último, se implementa un servidor web que permita el acceso al software y a los datos que este almacena desde cualquier equipo conectado a la misma red IP que el sistema.

3.1. Selección de plataformas

Para el desarrollo de este proyecto se ha decidido adquirir un sistema Raspberry Pi 3 B+ [9], con sistema operativo Raspbian, que será el encargado del procesamiento y almacenamiento de los datos y de muestrear las entradas digitales.

Como este sistema no cuenta con entradas analógicas, también se ha adquirido la tarjeta ADC Pi de ABElectronics [10] que cuenta con 8 entradas analógicas de 17 bits de cuantificación, llegando a alcanzar una precisión de decenas de microvoltios.

El sistema Raspberry Pi 3 B+ tampoco cuenta con un transceptor CAN. Por lo tanto, se ha decidido incorporar la tarjeta PiCAN2 Duo de SK Pang Electronics [11] que proporciona dos transceptores CAN que pueden comunicarse a una velocidad máxima de 1 Mbps.

3.2. Desarrollo del programa

El programa principal de captura de datos se divide en 4 bloques (ver Figura 2): el receptor CAN, el emisor CAN, el muestreo de las entradas digitales y analógicas.



Figura 2. Diagrama de bloques del programa.

El bloque encargado de la comunicación a través del Bus CAN guarda todos los mensajes recibidos con información relativa a la posición de las articulaciones y a los motores del exoesqueleto. Además, tiene la capacidad de enviar mensajes de configuración al exoesqueleto al iniciar el programa.

Los bloques de muestreo de las entradas digitales y analógicas son idénticos. A ambos se les introduce el número de entradas que se quieren muestrear, siendo 10 el máximo para las digitales y 8 para las analógicas, y su frecuencia de muestreo, con 30 muestras por segundo como máximo.

Debido a que se va a utilizar el sistema de manera continuada y en varias sesiones, se creará un directorio según la fecha de la sesión y otro según la hora. De esta manera, cada vez que se ejecute el programa, los ficheros de datos quedarán localizados en su respectiva fecha y hora de comienzo.

Ya que los mensajes CAN se guardan en su propio formato, al final de la captura se descodifican los mensajes según su identificador, siguiendo la documentación del Exo-H2.

3.3. Servidor web

Para un fácil acceso al sistema electrónico, al programa de captura y a los datos que este proporciona, se ha implementado un servidor web.

En primer lugar es necesario que el sistema esté conectado a una red Ethernet o WiFi. Una vez conectado, se introducirá la dirección IP del sistema en el explorador desde cualquier otro dispositivo que esté en la misma red. La comunicación entre el cliente y el servidor será mediante la transferencia de comandos en los parámetros de la ruta URL. El servidor los leerá, procesará y responderá con un HTML acorde con el estado del programa.

Para un fácil control de la captura de los datos y su posterior acceso, se ha dividido la página en dos partes. Se presentan las dos partes que integran esta página web: en la parte izquierda (ver Figura 3) se localizan los parámetros de configuración y los botones de comienzo y pausa de la captura. En la parte derecha de la página web (ver Figura 4), se muestra una lista con los ficheros de capturas anteriores.

Entre los parámetros de configuración se encuentra la opción de reconfigurar el exoesqueleto. Si se selecciona la opción de reconfigurar, aparecerán todos los parámetros que el exoesqueleto necesita para ser reconfigurado y al comenzar la captura, se enviarán los mensajes de configuración. Además de los parámetros de reconfiguración, se podrán seleccionar el número de entradas analógicas y digitales deseadas, su frecuencia de muestreo y si se quiere comenzar la captura mediante un flanco de subida en una entrada digital designada como señal de disparo.

RECONFIGURAR	NO V
NÚMERO ENTRADAS DIGITALES	1 🗸
NÚMERO ENTRADAS ANALÓGICAS	1 🗸
DISPARO	SI 🗸
DISPARO DE PARADA	SI 🗸
MUESTRAS DIGITALES POR SEGUNDO	
MUESTRAS ANALÓGICAS POR SEGUNDO	

Figura 3. Sección izquierda de la página web.

Para explorar los ficheros de capturas anteriores se seleccionará el directorio a explorar y se pulsará el botón de VER. De igual manera se hará para visualizar los ficheros. Para retroceder, se pulsará el botón de VOLVER. Por último, si se desea descargar alguno de los ficheros, se seleccionará el fichero elegido y se pulsará el botón de DESCARGAR.

VER VOLVER DESCARGAR

Figura 4. Sección derecha de la página web.

4. Validación del sistema

Para comprobar que el sistema funciona correctamente, se ha realizado una validación conectando el exoesqueleto al sistema, y un sensor de fuerza resistivo (FSR), que estará colocado entre el músculo a medir y las sujeciones del exoesqueleto. Este sensor formará parte de un divisor de tensión con una resistencia de 100 k Ω y se conectarán sus bornas a una entrada analógica. Además, se conectará a otra entrada analógica una señal de salida del exoesqueleto que indica cuándo se está realizando un ejercicio.

4.1. Pruebas realizadas

Para la validación del sistema se han realizado las mismas pruebas en tres sujetos sanos diferentes. El objetivo de estas pruebas es el estudio del movimiento de articulaciones aisladas y de la fuerza que estas pueden ejercer. De esta manera, se podrá contrastar los valores obtenidos para sacar conclusiones.

En primer lugar, el sujeto que realice la prueba debe ponerse el exoesqueleto. Una vez ajustadas todas las articulaciones del exoesqueleto al paciente correspondiente se coloca el FSR.

La primera prueba a realizar es una contracción isométrica del tobillo derecho siendo esta articulación la única del exoesqueleto que no está bloqueada. El bloqueo del resto de articulaciones se realiza con el fin de asegurarse que sólo se mueve el tobillo y que la rodilla y cadera no aportan nada a ese movimiento. De esta manera, el sujeto debe ejercer toda la fuerza posible intentando realizar un movimiento dorsal del tobillo mientras se le ofrece resistencia al movimiento y así lograr la contracción voluntaria máxima. Este ejercicio se repetirá cinco veces. Se colocará el FSR en el empeine del pie derecho y comienza la captura de datos (ver Figura 5(a)). Para esta prueba se ha elegido una frecuencia de muestreo de las señales analógicas de 8 muestras por segundo. Tras realizar la prueba con el primer sujeto, se cambiará la frecuencia de muestreo a 25 muestras por segundo para validar la captura a una frecuencia más alta.

Tras esta primera prueba, se realizarán 10 flexiones y 10 extensiones del tobillo derecho, siendo el sujeto ayudado por el exoesqueleto y acompañando al mismo durante el movimiento.

La tercera prueba es una contracción isométrica de la rodilla derecha (ver Figura 5(b)). Se colocará el FSR por encima de la rodilla del sujeto y debajo de una de las sujeciones del exoesqueleto. El exoesqueleto se bloquea de nuevo para permitir un movimiento aislado de la rodilla y el sujeto intenta realizar una extensión de la rodilla mientras se le ofrece resistencia a este. De esta manera, se mide la fuerza máxima que realiza el sujeto en esta contracción isométrica.

Por último, se realizan 10 flexiones y 10 extensiones de la rodilla derecha, siendo el sujeto, de nuevo, ayudado por el exoesqueleto para realizar el movimiento.

Tras realizar este último ejercicio, se termina la captura de datos, se retira el FSR y el exoesqueleto siendo la duración total de las pruebas de aproximadamente 10 minutos.



Figura 5. Contracción isométrica del tobillo derecho (a) y la rodilla derecha (b) del sujeto.

4.2. Valores obtenidos

Tras la realización de las pruebas a los tres sujetos, se procede a hacer un análisis de los datos obtenidos. Se van a representar los datos del sujeto 1 como muestra representativa para mostrar los datos que se obtienen en las pruebas realizadas. Posteriormente, se representará una comparativa entre los tres sujetos analizados.

Para obtener una comparativa en la que contrastar los valores, se han normalizado los valores obtenidos; entre ellos, la activación del exoesqueleto, el valor del FSR y la fuerza realizada por el motor en el tobillo derecho obtenida del exoesqueleto.



Figura 6. Valores obtenidos de la contracción isométrica del tobillo.

Como se ve en la Figura 6, a partir del momento en el que se activa la señal del exoesqueleto, tanto el FSR como la fuerza del motor ascienden en valor. También se pueden distinguir fácilmente las cinco repeticiones que se realizan del ejercicio.

Tras la contracción isométrica, se realiza la flexión y extensión del tobillo 10 veces. En este caso, en vez de representar la fuerza del motor del exoesqueleto, se representará la posición angular del tobillo. De esta manera, se observa el efecto que tiene la posición angular del tobillo sobre la presión ejercida sobre el FSR.



Figura 7. Valores obtenidos de la flexión y extensión del tobillo.

A continuación, se muestra otra de las posibles aplicaciones del sistema electrónico, la comparación entre sujetos. Esta comparación permitiría valorar las diferencias entre los datos de personas con lesión medular y los obtenidos de personas sanas y así valorar el desarrollo del paciente y realizar una terapia acorde a este. En este caso, no se normalizan los datos para poder compararlos.

De la Figura 8 se puede concluir que la contracción ha sido diferente en los 3 sujetos sanos estudiados, y se tendrá en cuenta a la hora de compararlos. También se puede ver que, 270

aunque las amplitudes máximas son parecidas, la mayor variación es la del Sujeto 2. Esto muestra que el Sujeto 2 ha realizado una contracción mayor, además de más duradera.



Figura 8. Comparación de los 3 sujetos en la contracción isométrica del tobillo.

5. Conclusiones

Tras haber analizado y comparado los resultados obtenidos, se puede concluir que la validación del sistema electrónico se ha realizado con éxito. La captura ha sido correcta y coherente con los valores esperados. Por lo tanto, se establecen las siguientes conclusiones:

- El sistema electrónico es capaz de integrar diferentes dispositivos analógicos y digitales para un análisis conjunto de los datos.
- Los experimentos realizados en el HNPT han resultado satisfactorios, cumpliendo con las especificaciones necesarias.
- El sistema es capaz de servir un entorno web al mismo tiempo que captura datos.

Referencias

- Díaz Velázquez, E. Análisis sobre la lesión medular en España Informe de resultados. Technical report, 2012.
- [2] Instituto Nacional de Estadística. Tasa de población con discapacidad que tiene diagnosticadas determinadas enfermedades crónicas según la enfermedad por CCAA y sexo.
- [3] Solidaridad Digital. La esperanza de vida de los lesionados medulares se iguala a la del resto de población. 2009.
- [4] Alam M., Zheng Y. Motor neuroprosthesis for injured spinal cord: who is an ideal candidate? *Neural Regeneration Research*, 2017.
- [5] Del-Ama A.J., Gil-Agudo A, Pons J.L., Moreno J.C. Hybrid gait training with an overground robot for people with incomplete spinal cord injury: a pilot study. *Frontiers in human neuroscience*, 2014.
- [6] McGowan B., Industrial Exoskeletons: What You're Not Hearing. Occupational Health & Safety. 2019.
- [7] Gorgey A. S. Robotic exoskeletons: The current pros and cons. World Journal of Orthopedics, pág. 9, 2018.
- [8] Bortole M., Venkatakrishnan A., Zhu F., Moreno J. C., Francisco G. E., Pons J. L., Contreras-Vidal J. L. The H2 robotic exoskeleton for gait rehabilitation after stroke: early findings from a clinical study. *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, 12(1):54, 2015.
- [9] Raspberry Pi. Raspberry Pi 3 Model B+. <u>http://www.raspberrypi.org/</u>. [Online; accedido 2019-07-30]
- [10] ABElectronics. ADC Pi. <u>https://www.abelectronics.co.uk/</u>. [Online; accedido 2019-07-30].
- [11] Duo B Rev. PiCAN 2 DUO DATASHEET. <u>www.skpang.co.uk</u>, 2016. [Online, accedido 2019-07-30].

Extrusion bioprinting of a commercial bioink: a computational simulation of the temperature / pressure relation

E. Mancha-Sánchez¹; JC. Gómez-Blanco¹, M. López², A. Díaz-Parralejo², FM. Sánchez-Margallo¹, JB. Pagador Carrasco¹

¹Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {emancha, jcgomez, msanchez, jbpagador}@ccmijesususon.com

²Departamento de Ingeniería Mecánica, Energética y de los Materiales, Universidad de Extremadura, Badajoz, España, mlopezks@alumnos.unex.es, adp@unex.es

Abstract

Computational simulation is very useful and widely used to acquire large amount of data of flows in a cost efficiency way. In this sense, bioprinting is starting to get studied by the used of computational simulations. Some parameters of bioprinting procedures are susceptible to be studied using Computational Fluids Dynamics, making it easier for researchers to understand how the internal extrusion process works. In this way, we have performed a series of simulations to study the effect of printing temperature on the pressure distribution. In these simulations a 22G conical tip was used as nozzle geometry with 15°C, 25°C or 37°C as the printing temperature of a commercial bioink. Results show stability of the extruded bioink jet with values of outlet pressure of 752.00, 837.50 and 907.75 kPa for 37, 25 and 15°C, respectively. However, inlet pressure presents nine times higher values than outlet one with 8333.81, 7545.01 and 6695.69 kPa. In summary, all pressures reach quickly a stable value for all bioprinting temperatures, but present high difference between inlet and outlet pressure in all cases.

1. Introduction

The creation of an object layer by layer is the main principle of additive manufacturing fabrication usually named as "3D printing". This principle allows to obtain high complex geometries, not possible to obtain with conventional fabrication methods. This technology has revolutionized how new products are made. 3D printing is very used in all types of fabrication process, from amateurs to professionals, with a huge variety of applications.

When 3D Printing technology is applicated in health or biology is called Bioprinting [1-3]. The technology is practically the same as 3D printing with some particularizations in the materials. Bioprinting uses cellladen or cell-compatible materials. In fact, any kind of material can be used for bioprinting as long as they are biocompatible (allow cells to live and proliferate) and, in some cases, biodegradable [4-6]. The used materials are usually 1) polymers as Polycaprolactone (PCL) or methylcellulose and 2) hydrogels as Alginate or Hyaluronic Acid (HA). It is very important to make a correct selection of the material to be printed. There are two main reasons, first to obtain the appropriate mechanical properties, and second to develop the needed biological functionalities. There are studies that analyse the best materials for different applications and cell lines [7-9]. 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. In this sense, bioprinting process requires careful control of some key parameters such as temperature, pressure, CO₂ and pH [10] so that the cells have the nutrients and environment to live and proliferate [11].

Extrusion bioprinting is the most used technique among other possibilities (inkjet and laser-assisted) [12], mainly due to its cost-efficiency rate and the possibility of customization [13]. These kinds of bioprinters use extrusion heads that are usually formed by a syringe and a needle or a tapered nozzle (conical tip). The main problem of this kind of procedure is the high values of inner pressure reached that can provoke a low cell survival [8].

Flow through nozzles is usually studied using physical experiments of the system, but when experiments are quite difficult to perform there is a very useful tool that only requires a computer: computational simulation [14-15]. However, simulations in bioprinting have still room for improvement with only a few research studies [16-17]. In order to have a tool to help select the most appropriate hydrogel, Computational Fluids Dynamics (CFD) studies in bioprinting technology could be postulated as previous studies that provide useful data.

Hence, the main objective of this work is to check if there is influence of the hydrogel printing temperature in extrusion bioprinting flow, specifically in the pressure distribution, using computational fluid simulation for a commercial biocompatible material.

2. Methods

2.1. Model

Three different models were created and simulated in commercial software COMSOL Multiphysics 5.4 through a 2D axisymmetric model and the Two-Phase Flow (TPF) level set interface. The conical tips geometry was modelled by a trapezium and a rectangle. The trapezium of 32 mm of height, 2 mm of inlet face and 0.2 of the outlet face (G22, conical tip). The rectangle dimensions were 6.5/0.92 mm height/width. Additionally, the air where the nozzle ejects the material was composed by a rectangle and a trapezium.



Figure 1. Representation of models' geometry.

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:

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} + \rho(u \cdot \nabla)u = \nabla \cdot \left[-pI + \mu(\nabla u + \nabla u^T)\right] + F + \rho g$$
$$\nabla \cdot u = 0$$

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:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \cdot \nabla \phi = \gamma \nabla \left(\epsilon_{ls} \nabla \phi + \phi (1 - \phi) \frac{\nabla \phi}{|\nabla \phi|} \right)$$

where ϕ is the contour line of the interface of the gasliquid 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 each one of the models, two different domains were considered. The first domain was related to the nozzle

where the hydrogel was placed, and the second domain was the outside of the nozzle, the air where the bioprinting material was ejected. The material used for the simulation was a commercial bioink (Cellink Bioink), composed by alginate with nanocellulose fibres, with a density of 1000 kg/m^3 and a non-linear viscosity described by the Potential Law:

$$\mu = m(\dot{\gamma})^{n-1}$$

Where μ is the dynamic viscosity (Pa.s), is *m* is the fluid consistency index, $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹) and *n* the flow behaviour index. Three different simulations were performed with three different temperatures (15, 25 and 37° C). As a Non-Newtonian fluid, the viscosity was obtained using a rheometer and the Newton potential law parameters are listed in Table 1.

	15°C	25°C	37°C
m (Pa s ⁿ)	88.69	101.36	89.26
n (adimensional)	1.239	1.205	1.206

 Table 1. Consistency index (m) and flow behaviour index (n) of Cellink Bioink at 15, 25 and 37°C.

To make possible a flow, an inlet was placed in the top part of the nozzle with a value of 5 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 that creates multiple meshes for segments of the time-dependent simulation. For the 15°C model, the initial triangular mesh was composed by 15240 triangular elements, while the remeshing raise the number of elements up to 21640 in the zone where the interface between both materials is placed. The 25°C model mesh used 15240 triangular elements and as the previous model remeshing raise the number of elements up to 21688. The third model (37°C) was generated with 15240 and 21709 triangular elements for the initial mesh and the final remeshing, respectively.

2.5. Simulation

A 1.5 s simulation using a 5 ms step was carried out for each model. This simulation was 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:

$$\phi_0 = \frac{1}{1 + e^{D_{wi}/e}}$$

in domains initially filled with bioprinting material and:

$$\phi_0 = \frac{1}{1 + e^{-D_{wi}/\epsilon}}$$

in domains initially filled with air.

Where ϕ is the domain reference (volumetric fraction) and ϵ is the interface thickness (m).

For the 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. On the other hand, 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. Additionally, the fluid volumetric fraction was defined such as the amount of each material during the simulation where $\phi_0 = 1$ means 100% hydrogel and $\phi_0 = 0$ means 100% air (material interface of 0.5).

3. Results and Discussion

3.1. Fluid Volumetric Fraction

Figure 2 shows the material extrusion in 1.5 s of simulation with no visual difference in the extruded material.



Figure 2. Fluid Volumetric Fraction of 15, 25 and 37°C (from left to right) model in 1.5 s.

To check if there are any kind of difference between the models the extruded volume was calculated. The total volume of the air section (before simulation starts) is 17662.5 mm³. For 15, 25 and 37°C the volume grows linearly from 0 value to 293.23, 294.73 and 294.80 mm³ as can be seen in figure 3. As all the lines are overlapped on the plot it can be stated that there are no differences between the extruded volumes of the different simulations. This fact is logical due to the equality of input conditions and geometries.



Figure 3. Extruded volume of hydrogel at 15, 25 and $37^{\circ}C$ (simulation time = 1.5 s).

3.2. Pressures

Figure 4 shows the outlet pressure obtained in the simulations for all three models. This pressure is defined such as the bioink pressure at the end of the nozzle. In all the simulations this outlet pressure increases from 0 to the plateau value in 0.2 s. As can be seen the higher the printing temperature the lower the outlet pressure. The plateau values for outlet pressure are 752.00, 837.50 and 907.75 kPa for 37, 25 and 15°C, respectively.



Figure 4. Outlet pressure plot of 15°C (blue cross), 25°C (red triangles) and 37°C (green squares).

Figure 6 shows the inlet pressure of the three simulations that is defined such as the bioink pressure at the top of the nozzle. It can be seen that the inlet pressure is higher that the outlet pressure with the same behaviour through the time, it increases from 0 to the plateau value in 0.2 s. Inlet pressure is a bit more stable in time that outlet pressure with plateau values 8333.81, 7545.01 and 6695.69 kPa for 15, 25 and 37°C, respectively.

In general, pressure decreased with the flow of material, concretely the ratio inlet/outlet pressure is 9.2, 9, and 8.9 for 15°C, 25°C and 37°C printing temperature respectively.



Figure 5. Inlet pressure plot of 15°C (blue cross), 25°C (red triangles) and 37°C (green squares).

This study only shows a small time of the whole bioprinting process and 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 three different computational simulations of the flow of a commercial bioprinting material with different printing temperatures have been done. We have checked three important facts, 1) Outlet and inlet pressures reach a stable plateau value in a short time, 2) Outlet pressures are around 9 times lower that inlet pressures, and 3) Changes in printing temperatures provoke a variation in the pressures obtained. However, pressure values must be verified with additional empirical studies and check the impact of those pressures on cells viability.

For this reason, to perform controlled bioprinting tests and simulations with parametric modifications in bioink rheological properties will be needed to properly understand pressure variations in extrusion bioprinting. Once, fidelity of simulations is confirmed, huge amounts of data from new simulation models will allow to obtain optimum bioprinting material features to reduce pressure distribution attending to cell survival.

Acknowledgements

This work has been partially funded by the Consejería de Economía e Infraestructuras (Junta de Extremadura). Grant number IB16200 "Optimización y mejora de técnicas de bioimpresión para regeneración de cartílago y prótesis vasculares".

References

 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] [1] F. Moldovan, "Recent Trends in Bioprinting," Procedia Manuf., vol. 32, pp. 95–101, 2019.
- [3] [1] A. N. Leberfinger et al., "Bioprinting functional tissues," Acta Biomater., 2019.
- [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] 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.
- [11] 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).
- [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. Shi, B. Wu, S. Li, J. Song, B. Song, and W. F. Lu, "Shear stress analysis and its effects on cell viability and cell proliferation in drop-on-demand bioprinting," Biomed. Phys. Eng. Express, vol. 4, no. 4, 2018.
- [17] J. Göhl, K. Markstedt, A. Mark, K. Håkansson, P. Gatenholm, and F. Edelvik, "Simulations of 3D bioprinting: Predicting bioprintability of nanofibrillar inks," Biofabrication, vol. 10, no. 3, 2018.
- [18] COMSOL Multiphysics, "Theory for the Two-Phase Flow Interfaces - CFD Module User's Guide," *Manual*, p. 620, 2014.

Serious game para la estimulación física de los mayores. Prueba de concepto

F. M. Esteban-Gómez¹, J. L. Moyano-Cuevas¹, L.F. Sánchez-Peralta¹, F. M. Sánchez Margallo², Andreia Nicolau³, Cláudia Vaz³, 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, <u>fmesteban@ccmijesususon.com</u>, <u>jlmoyano@ccmijesususon.com</u>, <u>lfsanchez@ccmijesususon.com</u>, <u>jbpagador@ccmijesususon.com</u>,

² Dirección científica, CCMIJU, Cáceres, España, <u>msanchez@ccmijesususon.com</u>

³ Instituto Politécnico da Guarda, Guarda, Portugal, <u>andreianicolau@ipg.pt</u>, <u>claudiavaz@ipg.pt</u>

⁴ Centro de Investigação em Desporto, Saúde e Desenvolvimento Humano, Instituto Politécnico da Guarda, Guarda, Portugal, <u>cvilacha@ipg.pt</u>

⁵ RoboLab, Universidad de Extremadura, Cáceres, España, <u>emartinena@unex.es</u>, <u>pnuntru@unex.es</u>

Resumen

Como consecuencia del envejecimiento, los mayores pierden diferentes capacidades físicas como la de planificar y ejecutar una secuencia de tareas. Por ello el objetivo de este trabajo ha sido el desarrollo y validación preliminar de un serious game ambientado en la vendimia que permita principalmente la estimulación física y, en un menor grado, la estimulación cognitiva de los mayores. En este trabajo, se presentan resultados preliminares de un sistema para promover la actividad física mediante el trabajo de diferentes actividades funcionales. En concreto, el sistema consiste en una estructura de hierro con pulsadores y una TV, donde el mayor interactúa simulando la acción de andar, una actividad de reflejos y otra de orientación espacial. Además, algunas métricas como los fallos cometidos y el tiempo utilizado se utilizan para evaluar objetivamente la actividad, que se ha completado con una encuesta a los mayores 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 mavores su intención de utilizar el sistema en el futuro.

1. Introducción

El incremento global del envejecimiento de la población plantea importantes retos socioeconómicos para los sistemas sanitarios. De acuerdo con las tendencias establecidas por la organización mundial de la salud, en el 2050 la población mayor de 65 años estará en torno a 2 billones de personas [1]. El envejecimiento activo se ha convertido en una herramienta fundamental para mantener la autonomía de los mayores y retrasar su deterioro [2,3]. Son muchos los artículos que ponen de manifiesto las ventajas de realizar actividad física para prevenir patologías cardiovasculares [4], osteoporosis [5] o incluso los efectos positivos sobre el deterioro cognitivo [6]. A pesar de todos los beneficios descritos en la bibliografía sobre la importancia de llevar una vida activa, existen altos porcentajes de inactividad registrados entre las personas mayores.

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 [7]. 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 [8]. 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 de John et al. [9] 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 juego serio que integra el reconocimiento automático de la posición y el movimiento del mayor, así como su agilidad, reflejos, coordinación y equilibrio basado en un sistema con cámara RGBD y pulsadores.

2. Metodología

Diseño del ejercicio

Tras la realización de varios focus group con fisioterapeutas, terapeutas ocupaciones, psicólogos y profesionales de ciencias del deporte, todos ellos con experiencia profesional en la atención a personas mayores, se ha diseñado e implementado un ejercicio para la estimulación física que además tiene en cuenta aspectos cognitivos. El ejercicio se ha dividido en 3 fases que se ambientan en la tradicional tarea de la vendimia (actividad seleccionada por las personas mayores de la región EuroACE donde se está implementando el proyecto):

- Fase I: Caminar y recoger objetos

El mayor debe simular la actividad de caminar elevando los pies sin desplazarse, a una altura predefinida por el profesional que es configurable según el nivel de dificultad que se desee dar al juego, mientras recoge los objetos que se le presentan por el camino y evita obstáculos hasta llegar al final del recorrido.



Figura 1. Persona mayor realizando la fase I.

- Fase II: Recolectar y transportar uvas

En esta fase el mayor simula la recogida de las uvas mediante un sistema de pulsadores iluminados, con los que se trabajan los reflejos y el tiempo de reacción. Después, el mayor debe vaciar el cubo con los racimos de uvas mientras entrena la orientación espacial y realiza sentadillas.



Figura 2. Persona mayor realizando la fase II.

- Fase III: Pisar las uvas

Esta fase consiste en la parte final de la vendimia, la de pisar uvas, en la que el mayor debe colocarse en la posición indicada y simular el pisado de las uvas elevando los pies un determinado número de veces y a una altura definida por el profesional (ambos aspectos configurables según el nivel de dificultad deseado).



Figura 3. Persona mayor realizando la fase III. *Sistema de estimulación*

Para la implementación de este ejercicio se ha diseñado un sistema formado por una cámara RGBD (Orbbec Astra Pro, Orbbec, USA) unas librerías de reconocimiento de esqueleto (Nuitrack, 3DiVi, USA), un ordenador NUC (NUC7i7-RAM8Gb-SSD250Gb-portHDMI4k), un microcontrolador Arduino (ELEGOO Mega 2560 R3 ATmega2560) y un conjunto de pulsadores iluminados (Figura 2).



Figura 4. Sistema de estimulación formado por una cámara RGBD, un NUC, una TV, un Arduino, 6 pulsadores Led-RGB y una estructura de hierro que alberga todos estos dispositivos.

El sistema realiza un seguimiento del esqueleto del mayor, tras calibrarlo inicialmente al extender los brazos en forma de cruz. Cada fase del juego tiene un autocalibrado posterior para asegurar un correcto seguimiento del mayor. Se ha utilizado Unity 3D (C#) con las clases *riggedAvatar*, *modelJoint, jointType* y *currentUserTracker* (clases pertenecientes a las SDK de Nuitrack) para controlar el avatar y la librería *system.io.port* para comunicarse con el Arduino a través del puerto serie.

El sistema conserva un fichero de registros local (log) con las métricas de evaluación de cada fase, que se sincroniza con un servidor remoto al terminar el ejercicio.

Métricas

Para evaluar los ejercicios, se han implementado varias métricas objetivas asociadas a cada fase. Estas fases se han desarrollado con el objetivo de entrenar al mayor y basadas en la opinión de profesionales experimentados en gerontología (ver figura 5).

FASE I	FASE II	FASE III			
ACTIVIDAD					
Caminar/correr	Presionar pulsador iluminado	Pisar la uva			
Recoger objetos	Descargar el cubo				
Esquivar obstaculos	Colocarse en la ubicación				
	ACTIVIDAD FUNCIONAL				
Gasto cardiovascular	Gasto explosivo	Gasto cardiovascular			
Resistencia	Reflejos	Resistencia			
Flexibilidad	Coordinación	Coordinación			
Coordinación	Orientación	Orientación			
CONFIGURACIÓN					
Número de pasos	Número de pulsadores a apagar	Número de pasos			
Altura de los pies a levantar	Número de casillas	Número de casillas			
Velocidad	Número de sentadillas	Altura de los pies a levantar			

Figura 5. Acciones a realizar en cada fase, junto con las actividades funcionales que trabaja y los parámetros que permite configurar el juego.

Validación preliminar

Para el estudio, se consideró un grupo de 7 sujetos (edad media 71,57 años, siendo la edad mínima de 64 y la máxima de 75) compuesto por 5 hombres y 2 mujeres. Se diseñó un cuestionario compuesto por varios bloques (escala Likert donde: 1-poco valor/frecuencia, 5-mucho valor/frecuencia): 1) demografía, 2) actividad física que realiza y 3) nivel de satisfacción del ejercicio, con diferentes preguntas relacionadas con la facilidad de uso del sistema, el modo de interacción con el usuario y el interés por el ejercicio, entre otras.



Figura 6. Puntuación media de los mayores qué participaron en el estudio para el bloque 2: actividad física que realiza.



Figura 7. Puntuación media sobre el juego de vendimia de los mayores que participaron en el estudio (bloque 3- nivel de satisfacción).

3. Resultados y discusión

La tabla 1 muestra los datos demográficos de los participantes en la validación. Todos los participantes

poseen un mínimo de estudios y la mayoría juega con cierta frecuencia (una vez a la semana o más) a videojuegos.

Respecto a su condición física, la figura 6 muestra las frecuencias con las que realiza algún tipo de ejercicio. El nivel de actividad de los mayores participantes 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 [10].

Item	Respuesta	Frecuencia
Sexo	Hombre	5
BEAU	Mujer	2
	Nunca	2
Frecuencia en	Raramente	0
jugar a	Una vez al mes	0
videojuegos	Una vez a la semana	4
	Todos los días	1
	No sabe leer escribir	0
Nivel de	Estudios Primarios	2
estudios	Estudios secundarios	3
	Estudios Universitarios	2
	Hogar de mayores	0
Asistencia centros	Centro de día	0
•••••••	Asociación	7

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 7. Todos los aspectos del ejercicio fueron valorados positivamente con una puntuación superior a 4 sobre 5 menos en la parte de facilidad del sistema, siendo el valor de esta de un 3.9 debido que hav que mejorar las instrucciones y los vídeos de ejemplo. La facilidad para comprender el funcionamiento del juego y la facilidad de uso, así como el grado de entretenimiento obtuvieron valores mayores 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 [11]. Además, el plantear un ejercicio atractivo al usuario ha sido ratificado por otros autores como una base para garantizar el éxito de implantación [12].

Las métricas de realización fueron registradas durante el ejercicio. La tabla 2 muestra los resultados tanto de errores

como los tiempos para cada uno de los usuarios. La media de fallos (errores cometidos durante las diferentes fases del juego) fue muy baja. Dado que un error es contabilizado cuando se cumplía con alguno de las siguientes restricciones: colisión con algún objeto (roca), la no recogida de objetos (agacharse o alzar la mano para coger el objeto marcado) necesarios para la vendimia, la pulsación de pulsadores que no están iluminados o el agacharse en zonas no señaladas y la realización de pasos fuera de la zona delimitada.

También se muestran los tiempos obtenidos tras la realización del juego. Se puede observar que el participante (hombre 4) que ha marcado "Nunca" en la frecuencia de jugar a videojuegos haya sido el que en menor tiempo ha realizado el ejercicio. Esto puede ser debido a que los otros participantes hayan jugado a juegos que requieran menos esfuerzo, haciendo que este juego les haya provocado más dificultad por el cambio de entorno o dificultad y también debido a su edad, siendo el más joven del grupo de voluntarios.

Nombre	Edad	Tiempo (s.)	N.º fallos
Hombre1	73	629	5
Hombre2	75	325	3
Mujer1	78	298	2
Mujer2	72	349	2
Hombre3	69	360	4
Hombre4	64	265	3
Hombre5	70	449	3

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

A la luz de los resultados 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 escenarios o actividades y el entrenamiento de diferentes características físicas técnicas. Dado que en esta validación participan únicamente 7 personas mayores 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 físico.

4. Referencias

1 - World Health Organization. World report on ageing and health. Geneva: WHO; 2015.

2 Swift DL, Lavie CJ, Johannsen NM, Arena R, Earnest CP, O'Keefe, et al. Physical activ- ity, cardiorespiratory fitness, and exercise training in primary and secondary coronary prevention. Circulation Journal. 2013;77:281–292.

3 Notthoff N, Reisch P, Gerstorf, D. Individual Characteristics and Physical Activity in Older Adults: A Systematic. Review. Gerontology. 2017;63(5):443–459.

4 O'Donovan G, Blazevich AJ, Boreham C, Cooper AR, Crank H, Ekelund U et al. The ABC of Physical Activity for Health: a consensus statement from the British Association of Sport and Exercise Sciences. J Sports Sci. 2010;28:573–591.

5 Langsetmo L, Hitchcock C, Kingwell EJ, Davison KS, Berger C, Forsmo S, et al. Physical activity, body mass index and bone mineral density–associations in a prospective population-based cohort of women and men: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos). Bone 2012;50:401–408.

6 de Asteasu MLS, Martínez-Velilla N, Zambom-Ferraresi F, Casas-Herrero Á, Izquierdo M. Role of physical exercise on cognitive function in healthy older adults: A systematic review of randomized clinical trials. Ageing Research Reviews. 2017;37:117–134.

7. Christensen K, Doblhammer G, Rau R, Vaupel JW: Ageing populations: the challenges ahead. Lancet 2009, 374(9696):1196–1208

8. Ijsselsteijn 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.

9. 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.

10. 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

11. 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

12. 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.2013.117

Blockchain technology in healthcare: use cases and limits

J.J. Astrain Escola^{1,3}, J.D. Trigo Vilaseca², L. Serrano- Arriezu^{2,3}, F. Falcone Lanas^{2,3}, P. López-Iturri², I. Picallo Guembe²

¹ Department of Statistics, Computer Science and Mathematics, Public University of Navarre, Pamplona, Spain, josej.astrain@unavarra.es

² Department of Electrical, Electronic and Communications Engineering, {jesusdaniel.trigo, lserrano, francisco.falcone, peio.lopez, imanol.picallo}@unavarra.es

³ Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdiSNA), Pamplona, Spain

Abstract

Blockchain is currently one of the fashionable topics in many fields including, of course, healthcare. This means its indiscriminate consideration, even if it is not always useful for the expected purpose. This paper focuses on the careful analysis of the real possibilities offered by Blockchain technology, and of the limitations and deficiencies that it presents nowadays. To date its application in healthcare environments is not extensive, but this trend may change in the coming years if this technology effectively resolves some of the issues existing today.

1. Introduction

Blockchain is a distributed growing list of encrypted records (blocks), which allows recording transactions between different entities in a verifiable way. Each block includes a hash of the previous block. This means that each transaction is validated, verified and stored in a block.

As Nathan Sebastian describes in [1], Blockchain technology is one of the biggest new developments to hit the technological industries offering a path for different parties to achieve accord on a digital history. This ability to offer agreement on smart contracts opens up a whole world of possibilities in the healthcare sector. Three key aspects are involved in the management of smart contracts: transparency, immutability and reliability. The lack of traceability of transactions is a serious problem when concerning medicines. More and more efforts are being made, including at transnational level, to protect the integrity of the medication supply chain, and to combat fake medicines and the smuggling of medicines. But traceability is also required when pharmaceutical and electromedical companies devote enormous resources to having clinical information that allows them to research new products and develop services.

One of the most frequent use cases of Blockchain technology in healthcare is its application on EMR/EHR systems (data integrity auditing). The use of terms as electronic medical record (EMR) or electronic health record (EHR) interchangeably is perhaps unfortunate. EMR is referred to provide diagnosis and treatment, it is not designed to share information with other information systems, while EHR refers to information systems supporting information mobility and sharing. It is reasonable to use Blockchain to preserve the integrity of the information, as well as its authenticity (source and content), when using information systems that allow the sharing of this information (EHR). This does not happen when only clinical information is stored in the EMR information system of an institution/organization.

Considering a patient-centric model of healthcare, even if patients consent data sharing and access rights to external parties (researchers, second medical opinion...), permission and access control is a hard issue to be addressed. In principle, Blockchain provides secure storage, privacy of data, data integrity protection, ownership of data, data sharing, data traceability and data accountability. Furthermore, Blockchain technology even promises to cut down costs, to introduce high reliability opportunities, to grant end-to-end contract agreement and many other interesting capabilities. However, we must all try to apply this technology in a calm and reasoned manner given that it is not always feasible to implement all the promises performed. As indicated in [2], Blockchain technology has the potential to solve several issues of healthcare as a dynamic trust mediator, enhancing the implementation of the patient-centric healthcare model. Even if Blockchain in healthcare is still in the early days. Dasaklis, Casino and Patsakis indicated in [3] that from a scientific point of view, the available literature related to EHRs and blockchain technology is in its infancy.

According to the type of blockchain considered, a public blockchain is permissionless, provides decentralized trust and allows anyone to participate and validate the transactions. Transactions are public and anonymous, and the blockchain is maintained by the community. A private blockchain is permissioned and centralized. Transactions are validated internally and may be public or private. Hybrid or federated blockchains are permissioned under the coordination of a consortium. A relevant question when deploying a solution based on Blockchain is to decide how that chain should be. Opting for a public chain implies greater transparency, but also greater slowness, and requires a policy of rewards. Opting for a private blockchain provides better throughputs, but trust is based on the algorithm used rather than on the authority.

2. Use cases of Blockchain in healthcare

Without wishing to be exhaustive, a great number of use cases of Blockchain in the field of healthcare may be described. This can be observed on the great number of papers related to this topic in the last years [2-10].

2.1. Improve Medical Record Access

Some of them focus on the access to medical records; building real patient-centric systems where the patient is the real owner of his/her own medical records. For example, the Massachusetts General Hospital and the South Korean startup Medibloc started last year 2018 a project to pilot new DLT-based storage and exchange mechanisms that complement the existing EHR system. The Taipei Medical University Hospital also rolled out last year a blockchain-powered platform to improve medical record-keeping, incorporating additional security features of notification and consent before any transfer takes place.

However, it is difficult to determine what does "*patients having control over their own medical data*" means. Assuming that this meaning corresponds to the willingness of patients to control who, when and how accesses to their personal records, the question, as David Gerard describes in [4], is how to really provide and manage this access. Nowadays, the access to this information is usually based on access control lists and centralized database systems. These systems store logs that allow tracking who, when and where accesses which records. There exist proposals as MedRec [5], which presents a decentralized record management system to handle EMRs, using Blockchain technology, where providers maintain the blockchain using Proof-of-Authority. However, there is no evidence that this system has actually been implemented in any organization.

Blockchain can also be considered as a tool to allow improved interoperability of medical data across multiple systems. Interoperability implies both reliable and safe data exchanging, and concurrent and immediate data access. Nevertheless, problems related with the transference and share of data quickly appear. Those problems are usually related to the ownership of information and its duty of custody. The medical history includes information concerning the patient and his/her pathologies, which obviously belongs to the patient. However, it is relatively frequent that information specific to healthcare personnel is also included, such as diagnosis, observations, assessments... and then many institutions consider that the information becomes dual-tiered (patient and institution) and, therefore, they require double authorization before data sharing.

2.2. Improve Medical Record Keeping

The goal is to grant the integrity of the records following strict legal regulations. Meeting the expectations created, blockchain will allow interoperability granting data access and exchange across multiple systems. Although it is true, it is not so much that this access is in real time.

Medical record management improvement is well addressed in [8], where the benefits of using blockchain instead of traditional databases for healthcare applications are well described. Unfortunately, virtually all of today's EHR systems employ databases and a migration to blockchain technology, first seems too risky, and second, offers no short-term benefits.

2.3. Reduce costs

Remove the middlemen and cut costs while maintaining trust and transparency is a way to improve economic efficiency. Another way to improve efficiency is integrating patient consent to the EHR systems, saving the medical costs associated with waiting for the arrival of medical records. Blockchain can actively help to achieve all of this, but what has not been adequately studied to date is what is the associated opportunity cost, and the effort involved for an organization to migrate its wide structure to a technology as immature to date as Blockchain is.

2.4. Fight against medicine counterfeiting

The 5th July 2019, The Guardian newspaper published in its international edition an article entitled *Fight the fakes: how to beat the \$200bn medicine counterfeiters*. Beyond the content of the article, it can be evidenced by the many press articles dedicated to this subject in the international press, that the concern for the traceability of medicines has reached the ordinary citizen. It is no longer a problem that is only on the minds of the big health managers, but citizens perceive it as a serious risk to their health.

In this context, Blockchain is announced as the technological solution to the problem, and it may be so, but first, a commitment is required from the pharmaceutical industry and health institutions to agree on an agile and reliable system of authentication of medicines. Some companies have developed MediLedger [11], an open and decentralized network for the pharmaceutical supply chain. The US Food and Drug Administration has initiated a pilot project program called Drug Supply Chain Security Act in collaboration with the companies IBM, KPMG, Merck and Walmar. The goal of this project is to assist medicine supply chain stakeholders in developing the electronic interoperable system that will provide authentication and traceability to certain prescription medicines.

It would be very beneficial for all parties involved (pharmaceutical industry, countries, health institutions, drug agencies and citizens) an international agreement to develop a blockchain network, probably federated, to resolve all these issues in an effective way.

2.5. Tracking of clinical and pharmaceuticals trials

Pharmaceutical trials are evidence-based research but bound by strict data regulations. This implies the need to make scientific progress compatible with the right of patients to maintain their anonymity, even more when their health is involved. Some patients voluntarily give up their clinical information so that pharmaceutical companies and medical institutions can carry out their research, but it should not be forgotten that there is a special interest in having large volumes of data to facilitate this research work, even if they are acquired from third parties. In this context, analytics for research purposes under remunerative models are now emerging. A greater collaboration among patients, research communities, countries, health organizations is required and Blockchain may provide the technological elements necessary to make this international need a reality.

2.6. Enhance the security and control of healthcare smart contracts

It is necessary to establish a regulatory framework that provides a legally binding. This is especially complicated when many of the actors involved are international, as it is difficult to stablish which regulatory framework should be applied. As can be seen, in this case there is not a technological problem but a legal one. And the solution to this issue involves high-level political decisions.

2.7. Medical appointment management

The analysis of the number of medical appointments lost due to the patient's non-appearance gives disheartening data. In some European cases this non-appearance reaches 10% of the scheduled appointments. This implies a significant financial outlay and an increase in waiting lists.

In many cases, traditional paper-based notification has been replaced or supplemented by telematic mechanisms (SMS, e-mails, etc.). It would be particularly interesting to have a notification mechanism that would also allow auditing that the patient has received the appointment correctly. In this way, the appointment service could have evidence to certify that the patient has been correctly cited and has accepted the appointment.

2.8. Health claims

Currently, the most frequent claims are those that request the deletion or cancellation of data (right to be forgotten) in electronic records and legal requests due to medical malpractice or malpractice. Patients may request for their data to be erased, but what happens when Blockchain technology is used? Data still be maintained within the blockchain, even if the data were to be deleted. The previous question to be resolved is whether these data belong exclusively to the patient, in which case they should be deleted, or if they also belong to the hospital or to the health entity that has treated him/her.

2.9. Tracking Medical Credentials

The mobility of health workers is a reality not only internally within a health organization, but also internationally. This implies the need to guarantee health credentials. The question to be addressed is who should be in charge of academic recognition. In this sense, the European Higher Education Area (EHEA) was meant to ensure more comparable, compatible and coherent systems of higher education in Europe from 2010 until now. This effort is beginning to bear fruit, but now it is only being applied in a small part of the world.

Blockchain may be a very effective tool in the certification of these credentials, but we are again faced with an international political issue.

2.10. Cloud-based EHR/EMR

In addition to the traditional discussions of using a cloud solution or on premise, emerges the possibility of sharing cloud-based solutions among different institutions and organizations where it is necessary to guarantee all transactions. Blockchain is the eternal promise, but it has not just materialized, as described in [12-13].

2.11. Billing of services

This is probably the field in which Blockchain's employment is most technologically mature and financially established. It was not in vain that the origin of Blockchain is found in the decentralized economic transactions.

2.12. Citizen's folder

Blockchain technology enables patients to more easily and securely gain and provide access to their own medical records. Blockchain technology enables efficient and customized real-time healthcare services since patients can choose which doctor or institution will have access to their medical records and for what purpose. The blockchain becomes a broker between the healthcare entities and the patients, offering immutable and publicly verifiable record exchange. This information can also should be used in any possible legal dispute, as described below. Citizens will always have available this information in their digital citizen folder.

2.13. Other cases

The traceability and custody when addressed to organ transplants, prosthetics, 3D impressions... is also an open case of study. As is the home hospitalization of and the remote monitoring of their vital signs. In both cases the same needs and problems already described above are repeated, but they are a sample of the multiple fields of application that Blockchain technology has.

3. Challenges

Many challenges appear when dealing with novel technologies. However, Blockchain is no longer so novel, so we must ask ourselves if these challenges refer to the immaturity of the technology or to the technical difficulty to fulfill the promises made. Let us then analyze some of these challenges to know what their cause is.

3.1. Governance: consensus

Since consensus is the key issue of the Blockchain technology, the choice of how this consensus will be reached is fundamental to its success or failure. When you bet on a public solution you run the risk of being able to suffer impersonation attacks (called 51% attacks) but they offer universal verification. The choice of a private solution significantly restricts the possibility of being attacked but reduces to the same extent the universality of the service because an agreement must be reached in the certifying authorities. Virtue may be in the middle ground (*aurea mediocritas*) and a Federated blockchain may be the better initial approach that can take us later to a Public Blockchain.

3.2. Regulatory compliance

Healthcare applications and systems mandatory require immutability and traceability of the data managed. The general regulation, as the General Data Protection Regulation (EU) 2016/679 does, covers data protection and privacy for all individual citizens. What happens if there is no common legal framework between the parties involved in a transaction? Systems must allow data sharing, traceability and accountability of data while granting the privacy and ownership of data. It is discouragingly common to observe that privacy requirements and information ownership rights differ according to the source of the information. Moreover, even not all countries have the same interpretation of data protection policies.

3.3. Scale issues

True integration and interoperability will only be achieved if Blockchain platforms can efficiently interact with legacy healthcare systems. A transnational agreement is required to offer a valid legal framework accepted by all partners. Nowadays, neither of the two conditions are met.

3.4. Lack of standardization

The existence of many different networks (Blockchain consortia), protocols, privacy measures, coding languages, consensuses... prevents technology providers from interact with each other. In the absence of a market leader, there is not even a "de facto" standardization.

4. Discussion

Smart contracts are the key of Blockchain success. They intend to digitally facilitate, verify, track and make irrefutable transactions without requiring third parties.

Nowadays Blockchain technology is based on open-source software. This, which some may consider as beneficial in justifying cost containment, can also be a barrier to entry into a sector that is accustomed to implement commercial suites developed by a reduced number of leading companies in the sector.

As indicated in [9], although shifting data ownership from healthcare entities to patients would require extensive efforts on legacy systems to introduce the Blockchain technology, it would empower patients to become active agents in their own care.

Actually, no usage and implementation feedback exist. Neither statistical comparisons with traditional systems are shared with the community, so, the costs associated to a Blockchain migration cannot be quantified reliably.

5. Conclusions

To date, the use of Blockchain technology in healthcare is hampered by the lack of standardization, because the technology is not too mature yet, in which there is a great variety of technological approaches and with a great variety of actors. On the other hand, Blockchain offers a great variety of fields of application, and a high capacity of adaptation to the concrete necessities that are raised. This is why large companies and institutions are taking active positions in this field, and large consortiums are beginning to appear. This opens a window of opportunity that many health care managers are beginning to take seriously.

Some issues as interoperability, data sharing, data access control and smart contracts bring new opportunities of business that should be at least considered and seriously analyzed. But there are still many political and legal issues to resolve. In addition, the question is whether these issues are not a relevant factor in explaining why Blockchain has not just been deployed in healthcare.

Acknowledgements

The authors would like to thank Club Gertech for giving them the opportunity to share these reflections with highlevel health managers. The authors also would like to thank Gobierno de Navarra for its support under the research grants PC078-079 STOP+ and PC097-098 PERISEIS 4.0.

References

- Sebastian N. The Ultimate Research on Blockchain Development for Businesses - GoodFirms Survey, https://www.goodfirms.co/resources/blockchaindevelopment-research (Last accessed August 2019).
- [2] Katuwal GJ, Pandey S, Hennessey M, and Lamichhane B. Applications of Blockchain in Healthcare: Current Landscape & Challenges. 2018. arXiv:1812.02776v1
- [3] Dasaklis TK, Casino F, Patsakis C. Blockchain Meets Smart Health: Towards Next Generation Healthcare Services, 9th International Conference on Information, Intelligence, Systems and Applications, Zakynthos, Greece, 2018, pp.1-8.
- [4] Gerard D. Attack of the 50 Foot Blockchain: Bitcoin, Blockchain, Ethereum & Smart Contracts. CreateSpace Independent Publishing Platform, 2017, USA. (ISBN: 1974000060).
- [5] Azaria A, Ekblaw A, Viera T, Lippman A. MedRec: Using Blockchain for Medical Data Access and Permission Management. 2nd International Conference on Open and Big Data (OBD), Vienna (Austria), 2016, vol 1, pp 25-30.
- [6] Angeles R. Blockchain-Based Healthcare: Three Successful Proof-of-Concept Pilots Worth Considering. Journal of International Technology and Information Management, vol 27, Issue 3, Article 4, 2019.
- [7] Agbo CC, Mahmoud QH, Eklund JM. Blockchain Technology in Healthcare: A Systematic Review. Healthcare, Healthcare (Basel). 2019 Apr 4; 7(2). pii: E56.
- [8] Kuo TT, Kim HE, Ohno-Machado L. Blockchain Distributed Ledger Technologies for Biomedical and Health Care Applications. Journal of the American Medical Association. 2017, 24, 1211–1220.
- [9] Vazirani AA, O'Donoghue O, Brindley D, Meinert E. Implementing Blockchains for Efficient Health Care: Systematic Review. Journal of Medical Internet Research, vol. 21, iss. 2, e12439, pp. 1-12, 2019.
- [10] Drosatos G, Kaldoudi E. Blockchain Applications in the Biomedical Domain: A Scoping Review, Computational and Structural Biotechnology Journal, 17, 2019, pp. 229-240.
- [11] MediLedger, The MediLedger Project. An Open and Decentralized Network for the Pharmaceutical Supply Chain https://www.mediledger.com/ (Last accessed Sept 2019).
- [12] Kassab M, DeFranco J, Malas T, Graciano Neto V, Destefanis G. Blockchain: A Panacea for Electronic Health Records? 2019. 10.1109/SEH.2019.00011.
- [13] Esposito C, De Santis A, Tortora G, Chang H, Choo K. Blockchain: A Panacea for Healthcare Cloud-Based Data Security and Privacy? IEEE Cloud Computing, vol. 5, pp. 31–37, 2018.
Análisis de dynalogs para el control de calidad del posicionamiento del MLC de un acelerador lineal

N. Gómez González¹, C. M. Santa Marta Pastrana², J. Martínez Ortega¹

¹Servicio de Radiofísica y Protección Radiológica, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, España, ngomezg@salud.madrid.org

²Departamento de Física Matemática y de Fluidos, Facultad de Ciencias, UNED

Resumen

En este trabajo describimos un método de análisis de los logs generados por el controlador del MLC (multileaf collimator) en tratamientos de intensidad modulada de radioterapia externa. Se pretende diseñar un método de análisis complementario a la dosimetría absoluta con EPID (Electronic Portal Imaging Device) que permita detectar posicionamientos incorrectos del MLC.

1. Introducción

La radioterapia externa utiliza aceleradores lineales de electrones para el tratamiento de algunos tipos de cáncer.

Los tratamientos son personalizados, lo que significa que es necesario realizar un control específico para cada plan de tratamiento previo al comienzo del tratamiento del paciente. Hay muchas formas de realizar este control de calidad específico, pero siempre se buscan métodos que no requieran mucho tiempo de máquina porque es complicado gestionar los tiempos en servicios con elevada carga asistencial. En nuestro centro se realiza mediante dosimetría absoluta con EPID, que no necesita la colocación de ningún maniquí entre gantry y detector.

Al evaluar los resultados de la dosimetría portal con EPID se observaron algunos casos con una zona de error que parecía corresponderse con una lámina. Para poder evaluar el correcto funcionamiento del MLC, así como la reproducibilidad de su posicionamiento, se recogieron y analizaron unos logs (dynalogs) que genera el propio acelerador en tratamientos dinámicos y que nos proporciona información de diversos parámetros, como la posición y velocidad de cada una de las láminas. Diversos estudios han analizado estos ficheros para extraer información [1-4].

El objetivo de este trabajo es analizar la información que nos proporcionan los dynalogs, las diferencias de posicionamiento de las láminas y su reproducibilidad de posicionamiento.

2. Material y métodos

En este trabajo se han analizado campos de tratamiento de intensidad modulada dinámica (dIMRT, *dynamic intensity modulated radiation therapy*) que utilizan la técnica *sliding window*. Cada haz de tratamiento mantiene el giro de gantry, el giro de colimador y las mordazas en una posición fija y va moviendo las láminas del MLC de

forma dinámica. Cada sesión de tratamiento consta de entre 5 y 14 campos, siendo lo más habitual en nuestro centro la utilización de 7 campos por sesión. El 88% de los casos analizados corresponden a tratamientos de próstata, y el 12% restante a otras localizaciones como recto o glotis. Se han analizado entre una y seis sesiones de los tratamientos de 74 pacientes, un total de 2484 dynalogs generados por el controlador del MLC que corresponden a 1242 campos de tratamiento.

El acelerador lineal Clinac 21EX (*Varian Medical Systems, Palo Alto, California, EEUU*) disponible en el Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda dispone de un MLC Millenium 80 con 40 pares de láminas. Cada lámina tiene un grosor de 1 cm proyectado en el isocentro.

Los dynalogs son ficheros de texto creados por el controlador del MLC de Varian tras la irradiación de cada campo de tratamiento dIMRT. Se generan dos ficheros, uno por cada banco de láminas que contienen parámetros de la administración del tratamiento registrados cada 50 ms por el controlador. Estos parámetros incluyen la posición de las mordazas, la posición del colimador, las posiciones planificadas y reales de las láminas del MLC, la dosis por fracción, etc. Estos datos permiten calcular los errores de posicionamiento del MLC. Múltiples estudios han validado la exactitud y precisión de los valores registrados en los dynalogs [5,6].

El fabricante proporciona un software para el análisis de los dynalogs de cada campo de tratamiento que proporciona el error cuadrático medio de posicionamiento de cada lámina y el promedio, así como un histograma del error absoluto de posicionamiento del MLC [7]. Para realizar un análisis más exhaustivo se ha realizado un script en Matlab (*MathWorks*) que nos proporciona la información anterior y es capaz de extraer más información de los dynalogs.

El acelerador lineal cuenta con un sistema de seguridad que detiene el haz de radiación cuando se superan los 2 mm de discrepancia entre la posición real y la esperada de las láminas. Los tratamientos se han diseñado con el sistema de planificación Raystation 7.0 (*RaySearch Laboratories*) y calculado con algoritmo de convoluciónsuperposición. Se administraron en el acelerador lineal a una tasa de 400 UM/min.

283

Este trabajo tiene dos objetivos: en primer lugar, comprobar que el posicionamiento del MLC está dentro de las tolerancias establecidas por la legislación vigente y por el fabricante y, en segundo lugar, evaluar la magnitud de las discrepancias detectadas.

3. Resultados

Se han analizado los resultados con un programa realizado en Matlab que calcula las diferencias de posicionamiento, las diferencias de velocidad, el error cuadrático medio y el índice de complejidad (MCS, *modulation complexity score*), entre otros.

Las diferencias entre las posiciones planificadas y las administradas pueden generar una diferencia en la dosimetría final. Con este procedimiento no se está verificando el posicionamiento del paciente durante la sesión de tratamiento, para ello debería utilizarse algún sistema de control por imagen como la dosimetría in vivo con EPID complementada con la información que proporcionan los dynalogs del MLC.

3.1. Repetibilidad de posicionamiento

Se han recogido dynalogs de 30 tratamientos en dos o más sesiones, de forma que se disponen de registros de campos iguales irradiados en diferentes días. Se observa que las diferencias entre ellos son muy pequeñas. Parámetros como el tiempo de tratamiento, el error cuadrático medio de posicionamiento de cada banco de láminas o de la distancia entre bancos (gap), difieren en menos del 0,2%.

Los porcentajes de errores de posicionamiento en rangos entre 1,5 y 1 mm, entre 1 y 0,5 mm y entre 0,5 y 0,05 mm también son muy parecidos en diferentes administraciones de un mismo campo. La diferencia máxima calculada es de un 3%. Cabe destacar que esta diferencia máxima fue detectada tras una intervención del servicio técnico del acelerador lineal, en la que se realizó la sustitución de un motor de lámina. Tras la intervención el porcentaje de error se redujo. El análisis realizado del MLC puede servir para predecir cambios de motores de láminas, intervención bastante habitual en los aceleradores lineales.

3.2. Mapas de fluencia

Se han generado los mapas de fluencia medido y planificado para cada uno de los campos de tratamiento, y se han calculado las diferencias de posicionamiento entre ambos.

Para evaluar las diferencias entre lo medido y lo planificado se ha utilizado la función gamma 3%, 3 mm [8], que permite realizar una comparación teniendo en cuenta tanto diferencias de fluencia del 3% como diferencias de posicionamiento de 3 mm tomando un umbral del 10%. Los puntos con una fluencia inferior al 10% del valor máximo de fluencia de cada campo no se tienen en cuenta para el cálculo del índice gamma. La función gamma se ha normalizado a la unidad de forma que un valor de cero indica una coincidencia perfecta entre los dos planos, y un valor de uno indica una discrepancia por encima de las tolerancias.

En la Figura 1 se representa el mapa de fluencia medido, el planificado y la función gamma de uno de los 1242 campos analizados.

Se observan discrepancias muy pequeñas en zonas reducidas del plano. El promedio de valores gamma de todos los campos es de 0,12, lo que indica una buena concordancia entre los mapas medidos y los planificados.



Figura 1. Las imágenes corresponden a un campo de tratamiento. Arriba: mapa de fluencia real. Centro: mapa de fluencia planificada. Abajo: función gamma con valor global 0,15 que representa las diferencias entre fluencia real y planificada.

3.3. Error de posicionamiento

Se ha calculado el porcentaje de error en diferentes rangos como se puede ver en el ejemplo de la Tabla 1.

No se ha detectado ningún error superior a 2 mm. Esto era de esperar porque el acelerador lineal cuenta con un sistema de seguridad que impediría la irradiación al superar este umbral.

Se han detectado errores entre 1,5 y 2 mm en el 5,9% de los campos y en ningún caso superaba el 0,4% del total de puntos de control.

El MCS refleja la complejidad del campo de tratamiento, siendo el índice más alto cuanto mayor sea la modulación del campo, es decir, cuanto mayor sea la velocidad de las láminas y menor el área de los segmentos tratados [9]. Se observa que existe una correlación entre la complejidad del tratamiento y los errores de posicionamiento máximos, es decir, los campos más modulados tienen errores de administración mayores.

Error (mm)	N° puntos control.	Porcentaje	Porcentaje acumulado
[0-0,05)	18013	72,36	72,36
[0,05-0,50)	5973	24	96,36
[0,5-<1)	646	2,6	98,96
[1-1,5)	260	1,04	100
[1,5-2)	0	0	100
≥ 2	0	0	100

 Tabla 1. Error absoluto de posicionamiento en milímetros de uno de los campos de tratamiento.

En la Figura 2 se representa el histograma del error promedio de todos los campos. El 96% de los errores son inferiores a 1 mm. Se ha representado respecto al promedio de puntos de control.



Figura 2. Histograma del error absoluto de posicionamiento de los campos de tratamiento

También se ha calculado el error cuadrático medio (RMS) de las posiciones de cada una de las láminas para cada campo, como se puede ver en el ejemplo de la Figura 3. En este caso, la media del RMS es de 0,18 mm para el banco A y de 0,19 mm para el banco B, con un máximo de 0,23 y 0,25 respectivamente.



Figura 3. Error cuadrático medio de posicionamiento para cada una de las láminas en uno de los campos de tratamiento. Se representan únicamente las láminas que se mueven durante la administración de este campo.

En la Tabla 2 se resumen los datos de todos los campos analizados: errores promedio y máximo de posicionamiento y velocidad, tanto del plan como de la medida y sus diferencias, tiempo de tratamiento, etc.

	Promedio	SD
Tiempo tratamiento	22,01	6,34
Nº puntos de control	9653	3281
RMS Banco A (mm)	0,35	0,08
RMS Banco B (mm)	0,34	0,08
Error max A (mm)	1,28	0,09
Error max B (mm)	1,27	0,13
Promedio dif velocidad A	0,02	0,03
Promedio dif velocidad B	0,02	0,02
Max dif velocidad A	17,15	2,73
Max dif velocidad B	17,01	3,05
Promedio velocidad real A	3,62	1,15
Promedio velocidad real B	3,61	1,15
Max velocidad real A	25,33	1,90
Max velocidad real B	25,03	2,48
Promedio velocidad plan A	3,64	1,15
Promedio velocidad plan B	3,64	1,16
Max velocidad plan A	24,02	1,36
Max velocidad plan B	23,27	1,39
Max velocidad plan B	23,27	1,39

 Tabla 2. Resumen de datos de todos los campos analizados.

 Las velocidad vienen dadas en mm/s

4. Conclusiones

Se ha presentado un método de análisis complementario para realizar el control de calidad del MLC y la verificación específica de los tratamientos de radioterapia que utilizan la técnica dIMRT haciendo uso de los dynalogs que genera el propio acelerador lineal. Este método permite detectar discrepancias entre lo planificado y lo que realmente administra el acelerador lineal en términos de posicionamiento y velocidad de las láminas. De esta forma, el análisis complementa el uso de la dosimetría portal absoluta y permite la detección de errores en dosimetrías clínicas. También permite realizar un control de calidad exhaustivo del MLC y planificar la intervención del servicio técnico para evitar paradas de funcionamiento inesperadas.

El estudio debería complementarse buscando correlaciones entre los errores de posicionamiento del MLC y el ángulo de giro del gantry, el tiempo de tratamiento, la velocidad de las láminas, o MCS y automatizando el proceso para que sea viable realizar el análisis de los datos en la práctica clínica.

Se han analizado parámetros relacionados con el posicionamiento del MLC, obteniendo valores por debajo de la tolerancia establecida.

Referencias

- Teke T, Bergman AM, Kwa W. MonteCarlo Based, patient-specific RapidArc QA using Linac log files. *Med Phys* 2010 37(1), 116-123.
- [2] Lee JW, Park JH, Chung JB, Park JY, Choe BY. Inverse verification of the dose distribution for intensity modulated radiation therapy patient-specific quality assurance using

dynamic MLC log files. J Korean Phys Soc 2009, Vol 55, 1649-56.

- [3] Agnew CE, King RB, Hounsell AR, McGarry CK. Implementation of phantom-less IMRT deliveryverification using Varian DynaLog files and R/V output. *Physics in Medicine & Biology*, Vol57, 21.
- [4] Dinesh Kumar M, Thirumavalavan, N, Babaiah, M. QA of intensity-modulated beams using dynamic MLC log files. J Med Phys 2006 Jan-Mar; 31(1); 36-41.
- [5] Kerns JR, Childress N, Kry SF. A multi-institution evaluation of MLC log files and performance in IMRT delivery. *Radiat Oncol* 2014;9:176. http://dx.doi.org/ 10.1186/1748-717X-9-176.
- [6] Li JG, Dempsey JF, Ding L, Liu C, Palta JR. Validation of dynamic MLC-controller log files using a two-dimensional diode array. *Med Phys* 2003; 30:799–805. http://dx.doi.org/10.1118/1.1567951
- [7] Varian user manual. Dynalog File Viewer Reference Guide, Millenium MLC, Varian Medical Systems. 2011.
- [8] Low DA, et al. A technique for the quantitative evaluation of dose distributions. *Med. Phys.* 1998, 1998 May; 25(5):656-61.
- [9] McNiven, A. Sharpe, MB, Purdie, TG. A n ew metric for assession IMRT modulation complexity and plan deliverability. *Med Phys*, vol37:2, 2010, pp 505-15.

Diseño e implementación de un sistema de apoyo a la valoración clínica del glaucoma basado en seguimiento de la mirada

I. Martínez-Almeida¹, P. Lampreave¹, J. M. Martínez-de-la-Casa², P. Sánchez-González^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; psanchez@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Oftalmología. Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Resumen

Las tecnologías de seguimiento de la mirada o eye tracking (ET) se han consolidado como herramientas de gran potencial en el campo de la ingeniería biomédica. En este trabajo se propone la utilización de la tecnología ET como herramienta de apoyo a la valoración clínica del glaucoma. Así, se presenta un estudio comparativo entre los patrones de mirada de individuos sanos y pacientes con glaucoma al realizar tareas basadas en la observación de imágenes. En el trabajo se han desarrollado dos tareas que deben realizar los participantes del estudio. La primera de ellas consiste en la observación libre de imágenes mientras que la segunda se basa en la búsqueda de elementos. El experimento se ha llevado a cabo en el Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid y ha involucrado a 55 personas. Los resultados sugieren que la tecnología ET tiene un enorme potencial como herramienta para detectar diferencias entre individuos sanos y afectados por la patología. Sin embargo, son necesarios nuevos estudios para validar estadísticamente esta suposición.

1. Introducción

El glaucoma es una neuropatía óptica multifactorial caracterizada por la degeneración progresiva de las células ganglionares de la retina y una consecuente pérdida de visión, siendo la presión intraocular elevada el principal factor de riesgo [1]. Es la segunda causa de ceguera de manera irreversible a nivel mundial, afectando a aproximadamente 70 millones de personas (de las que el 10% tienen ceguera bilateral). En la mayor parte de los casos esta patología se presenta de forma asintomática hasta un estado avanzado de la misma, aunque también puede presentarse de forma aguda [1]

El diagnóstico temprano de esta patología es esencial, puesto que la pérdida de visión es irreversible. Sin embargo, dado que la enfermedad suele progresar de forma asintomática, quienes la padecen no suelen ser conscientes de ello hasta encontrarse en un estado avanzado de la misma. Es por ello que el diagnóstico no siempre es sencillo y requiere pruebas para examinar el campo visual, así como la aplicación de técnicas de imagen para observar el fondo de ojo y el estado del disco óptico [2]. El campo visual se evalúa mediante pruebas como la campimetría. Por otra parte, el estado del disco y nervio óptico se estudia a través de pruebas como la oftalmoscopia o la tomografía de coherencia óptica. Además. se realizan mediciones de la presión intraocular mediante la tonometría [3]. El seguimiento de la mirada o *eye-tracking* (ET) engloba todas aquellas tecnologías que monitorizan o registran el lugar al que se dirige la mirada. Los dispositivos actuales buscan minimizar el grado de "intrusión" característico de los sistemas más complejos y precisos, como los basados en lentes de contacto, a fin de no resultar incómodos para el paciente [4]. Su aplicación en ingeniería biomédica es extensa y se suele emplear para buscar diferencias entre los patrones de mirada de dos grupos de individuos, como pueden ser cirujanos noveles y expertos, o en el caso de este trabajo, pacientes con glaucoma e individuos sanos [5]-[7].

El objetivo principal de este trabajo es implementar un sistema de apoyo a la valoración clínica del glaucoma utilizando tecnología ET. Para ello se desarrollan dos tareas basadas en la observación de imágenes mientras el dispositivo de seguimiento de la mirada obtiene muestras. Además, se realiza un estudio comparativo entre pacientes con glaucoma y un grupo control usando el sistema desarrollado.

2. Materiales y métodos

2.1. Dispositivo de seguimiento de mirada

El sistema ET utilizado es un Tobii EyeX (Tobii technology, Estocolmo, Suecia). Las métricas más relevantes que se utilizan para evaluar el glaucoma son:

- Fijaciones: movimientos oculares en los que los ojos permanecen quietos durante 200-300 ms en un área de 1°x1° de ángulo visual [8]. Son importantes la cantidad, su duración y su distribución.
- Sacadas: movimientos oculares entre fijaciones consecutivas [8]. La velocidad y amplitud de estas aporta información sobre el recorrido de la mirada.
- Movimientos de cabeza: la cantidad y su amplitud pueden aportar información sobre la afectación al campo visual del paciente [8].
- Número de aciertos/errores: los aciertos y errores sirven para evaluar el rendimiento en la realización de tareas específicas [8].

2.2. Tareas implementadas

Se han implementado dos tareas estáticas basadas en imágenes. Ambas han sido programadas en Java y se basan en la observación de diferentes imágenes. En la primera tarea el participante debe observar libremente una sucesión de diez imágenes que van cambiando cada seis segundos. En la segunda tarea el participante debe observar diez imágenes y buscar con la mirada elementos que se le indican por pantalla. Cuando encuentre estos elementos debe pulsar la barra espaciadora de modo que se almacena el instante de tiempo en que lo hizo. En la Figura 1 se puede ver una de las imágenes empleadas en la tarea 1.



Figura 1. Ejemplo de una de las imágenes de la tarea 1.

2.3. Software empleado

Para integrar las tareas explicadas anteriormente con el dispositivo Tobii EyeX se ha utilizado un paquete programado que contiene clases y librerías destinadas a adaptar la comunicación con el dispositivo ET al lenguaje Java, ya que el SDK del dispositivo ET sólo admite los lenguajes C y C++. La función principal del programa *"glaucoma ET"* es coordinar la realización de las dos tareas con el funcionamiento del dispositivo ET.

2.4. Diseño del experimento

El experimento está diseñado para ser realizado por dos grupos de participantes, uno de ellos formado por individuos sanos que actuaran de control y otro formado íntegramente por pacientes con glaucoma. Los pacientes con glaucoma son seleccionados por el personal clínico del Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos de entre aquellos diagnosticados de esta enfermedad, mientras que los sujetos del grupo control fueron escogidos de entre voluntarios que no padeciesen patologías oculares significativas.

El experimento tiene lugar en una sala del Servicio de Oftalmología. Los pacientes se sientan en una silla y apoyan la barbilla y frente en un soporte que pretende limitar el efecto de los movimientos de cabeza en la prueba. Se utiliza un monitor auxiliar de 18,5[°] con el Tobii EyeX en la parte inferior. Este monitor está conectado a un ordenador portátil desde el que se controla la ejecución de las tareas. Los pacientes se sitúan a aproximadamente 60 cm de la pantalla y realizan las dos tareas de forma consecutiva. La Figura 2 ilustra el montaje del experimento.



Figura 2. Diagrama del montaje del experimento

3. Resultados y discusión

En el estudio han participado 26 sujetos dentro del grupo control (media 38 años, desviación 22.35) y 29 pacientes con glaucoma (media 68 años, desviación 13,45). Tal y como se ha explicado en el apartado de diseño del experimento todos los participantes han realizado las dos tareas, la tarea 1 basada en observación libre de imágenes y la tarea 2 basada en búsqueda de elementos en imágenes.

Las métricas que se han evaluado en ambas tareas son el número de fijaciones, la duración media de las fijaciones, la ratio fijaciones/sacadas, la amplitud de las sacadas, la velocidad de las sacadas. En el caso de la tarea de búsqueda también se han medido el tiempo total de tarea y el tiempo total de búsqueda (suma de los tiempos de búsqueda en todas las imágenes).

Para el análisis de los datos de mirada y la obtención de muestras se ha empleado al software OGAMA (Dr. Adrian Vosskühler, Freie Universität Berlin). Además, se ha realizado el test estadístico Mann-Whitney para estudiar cómo de significativa es la diferencia de resultados entre grupos para cada métrica, tomando como valor de significancia p inferior a 0,05.

3.1. Métricas sobre fijaciones

Los resultados de las métricas sobre fijaciones para ambas tareas se observan en las tablas 1 y 2. El grupo control invierte un mayor número de fijaciones en ambas tareas. Sin embargo, la diferencia solo es significativa en la tarea 1 (p=0,012 frente a p=0,48 en la tarea 2). Esto puede indicar que los pacientes son capaces de compensar sus deficiencias visuales al realizar tareas más complejas como la búsqueda de objetos. Estos resultados se asemejan a los presentados por Wiecek et al. [9] donde el grupo de pacientes realizó una menor cantidad de fijaciones y movimientos sacádicos que el grupo control. La duración media de fijaciones es similar en ambos grupos (p=0,872 en tarea 1 y p=0,932 en tarea 2) y no aporta demasiada información. La ratio fijaciones/sacadas muestra una importante diferencia entre ambos grupos, siendo mayor este valor siempre en el grupo control. La diferencia es significativa para las dos tareas (p= 0,035 y p=0,04). Estos valores indican un mayor rendimiento al realizar recorridos con la mirada por parte de los individuos sanos en comparación con los pacientes.

	Control		Glaucoma	
	Media	SD	Media	SD
Número fijaciones	193,45	57,42	166,03	50,03
Duración fijaciones (ms)	192,15	39,88	193,51	54,49
Ratio Fijaciones/sacadas	554,23	169,85	477,12	142,63

Tabla 1. Métricas de fijaciones de la tarea 1.

	Control		Glauc	coma
	Media	SD	Media	SD
Número fijaciones	102,75	32,04	96,24	43,43
Duración fijaciones (ms)	188,11	26,61	196,53	56,04
Ratio Fijaciones/sacadas	548,85	149,88	424,85	151,93

Tabla 2. Métricas sobre fijaciones de la tarea 2.

Respecto a la distribución de fijaciones se observa que aquellos pacientes con un glaucoma más avanzado presentan una menor dispersión de fijaciones que los sujetos sanos. La Figura 3 y la 4 ilustran este patrón.



Figura 3. Fijaciones de un sujeto control en la tarea 1.



Figura 4. Fijaciones de un paciente en la tarea 1.

3.2. Métricas sobre sacadas

Las tablas 3 y 4 recogen los resultados de las métricas sobre sacadas. Se observa que el grupo de pacientes con

glaucoma presenta una media de longitud de sacada mayor al grupo control en ambas tareas. Pese a ello, los valores son muy similares entre ambos grupos y así lo muestra la significación estadística (p=0,604 en tarea 1 y p=0,317 en tarea 2). Aunque estudios como Najjar et al. [10] sugieren una amplitud menor de sacadas entre los pacientes con glaucoma, en este trabajo ha sucedido lo contrario y la diferencia no fue relevante. Hay que tener en cuenta que en Najjar et al. [10] las tareas a realizar por los pacientes eran diferentes y por ello pueden no repetirse los resultados.

En términos de velocidad de sacadas ambos grupos han obtenido resultados significativamente diferentes (p=0,023 en la tarea 1 y p=0,017 en la tarea 2), donde el grupo control presenta una velocidad media de sacadas notablemente superior al grupo de pacientes. Esto indica que una exploración visual más lenta en los pacientes coincidiendo con lo reportado por Najjar et al. [10].

	Control		Glaucoma	
	Media	SD	Media	SD
Amplitud sacadas (px)	203,54	39,28	206,21	44,57
Velocidad sacadas (px/s)	2,02	0,61	1,65	0,52

Tabla 3.	Métricas	relacionadas	con sacadas	de la	tarea 1.
----------	----------	--------------	-------------	-------	----------

	Control Media SD		Glaucoma	
			Media	SD
Amplitud sacadas (px)	195,16	30,49	210,04	45,33
Velocidad sacadas (px/s)	1,87	0,58	1,47	0,47

Tabla 4. Métricas relacionadas con sacadas de la tarea 2.

3.3. Métricas sobre tiempos en la tarea 2

Finalmente, la tabla 5 muestra los tiempos de la tarea 2. Comparando el tiempo total de búsqueda y el tiempo total de ejecución se observa que los pacientes por lo general completan la tarea necesitando más tiempo que los sujetos grupo control, al igual que sucede en Wiecek et al. [9]. Esta diferencia es significativa para ambas métricas de tiempo $(p=0,004 \text{ en el tiempo total de búsqueda y p=0,07 en el tiempo total de ejecución de tarea), lo que muestra que a los pacientes les lleva más tiempo realizar tareas de búsqueda con la mirada.$

	Control		Glaucoma	
	Media	SD	Media	SD
Tiempo total tarea (s)	36,06	42,37	42,99	10,58
Tiempo total búsqueda (s)	12,72	70,58	18,58	81,56

Tabla 5. Métricas sobre tiempos en tarea 2

	Valor de significación p		
Métrica	Tarea 1	Tarea 2	
Número fijaciones	0,012	0,48	
Duración fijaciones (ms)	0,872	0,932	
Ratio Fijaciones/sacadas	0,035	0,04	
Amplitud sacadas (px)	0,604	0,317	
Velocidad sacadas (px/s)	0,023	0,017	
Tiempo total tarea (s)	-	0,07	
Tiempo total búsqueda (s)	-	0,04	



La tabla 6 recopila los valores de p calculados para todas las métricas y para ambas tareas.

4. Conclusiones

El glaucoma es una de las principales causas de ceguera a nivel mundial. Por esta razón, pese a las numerosas herramientas de diagnóstico existentes es necesario desarrollar nuevas metodologías que evalúen las limitaciones que experimentan los afectados en su vida diaria. En este trabajo se ha desarrollado un sistema basado en tecnologías de seguimiento de la mirada que sirve para este cometido y ha sido probado en un estudio con pacientes. Los resultados obtenidos muestran que las tecnologías ET tienen un enorme potencial como herramienta de valoración del glaucoma, pero son necesarios más estudios que respalden esta conjetura.

Referencias

- Quigley, HA. & Broman, AT. "The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020". British Journal of Ophthalmology, vol. 9, issue 3, pp. 262–267, 2006. (DOI: 10.1136/bjo.2005.081224).
- [2] Mantravadi, A V & Vadhar, N. "Glaucoma. Primary Care Ophthalmology". *Primary Care: Clinics in office practice*, vol. 42, issue 3, pp. 437-449 2015 (DOI: 10.1016/j.pop.2015.05.008).
- [3] Jonas J B, Aung T, Rupert R Bourne, Alain M Bron, Robert Ritch . "Glaucoma", *Lancet*, vol. 390, pp. 2083-93, 2017.
- [4] Leveque L, Bosmans H, Cockmartin L & Liu H. "State of the Art: Eye-Tracking Studies in Medical Imaging". *IEEE Access*, vol. 6, pp. 37023-37034, 2018. (DOI: 10.1109/ACCESS.2018.2851451).
- [5] Wedel M & Pieters R. "A Review of Eye-Tracking Research in Marketing". *Review of Marketing Research*, vol 4, pp. 123-147, 2008. (ISSN: 1548-6435)
- [6] Órtega-Morán, J F, Toribio-Silva A.; Pagador J B; Sánchez-González P.; Gómez E.J & Sánchez-Margallo F M "Eye gaze behaviour watching an advanced laparoscopic procedure: experts vs. novices comparison", en: *International Conference on Computer Assisted Radiology and Surgery*, 2017.
- [7] Yousefi, M V, Ebrahim P K, Atefeh M & Somayeh A. "Implementing Eye Tracking Technology in the Construction Process". 51st ASC Annual International Conference Proceedings, 2015. College station, TX.
- [8] Just M A & Carpenter P A. "Eye fixations and cognitive processes." Cognitive Psychology, vol. 8, issue 4, pp. 441-480, 1976.
- [9] Wiecek Emily et al. "Effects of peripheral visual field loss on eye movements during visual search". *Frontiers in psychology*, 2012. (DOI: 10.3389/fpsyg.2012.00472)
- [10] Najjar RP, Sharma S, Drouet M et al. "Disrupted eye movements in preperimetric primary open-angle glaucoma". *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 58, pp. 2430-2437, 2017. (DOI:10.1167/iovs.16-21002)

Estudio de los Cambios en la Morfología de las Ondas T como Sustituto de la Concentración de Potasio en Sangre en Pacientes de Hemodiálisis

F. Palmieri^{1,2,3}, P. Gomis^{1,2}, D. Ferreira³, J.E. Ruiz⁴, B. Bergasa⁴, A. Martín-Yebra⁵, H.A. Bukhari^{2,6}, E. Pueyo^{2,6}, J.P. Martínez^{2,6}, J. Ramírez⁷, P. Laguna^{2,6}

¹ Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España.

² CIBER en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Zaragoza, España.

³ Laboratorios Rubio, Castellbisbal, Barcelona, España.

⁴ Servicio de Nefrología, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, España.

⁵ Department of Biomedical Engineering, Lund University, Lund, Sweden.

⁶ BSICoS Group, I3A, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.

⁷ William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London, London, United Kingdom

Resumen

Los pacientes con enfermedad renal crónica (en inglés end-stage renal disease, ESRD) que se someten a hemodiálisis (HD) tienen un alto riesgo de arritmias y muerte súbita cardiaca como resultado de los cambios en la concentración de potasio en la sangre ($[K^+]$). El objetivo de este estudio es investigar si d_w , un biomarcador derivado del análisis del electrocardiograma (ECG) utilizando el método de la deformación de la onda T (en inglés time-warping) para analizar los cambios en la morfología de la onda T, refleja la evolución de $[K^+]$ en pacientes en HD. Esto facilitaría el control no invasivo de [K⁺] evitando realizar análisis de sangre en el hospital. Para ello, se obtuvieron y analizaron ECGs de 48 horas y un conjunto de muestras de sangre de 12 pacientes en ESRD. d_w se calculó a partir de una onda T de referencia, medida al final de la sesión de HD, y las ondas T correspondientes a cada hora durante la sesión de HD, coincidiendo con los valores de $[K^+]$ de las muestras de sangre. Los valores de d_w resultaron estar correlados con las variaciones relativas en [K⁺] con respecto al valor de referencia (final de HD, $\Delta[K^+]$), con un coeficiente de correlación de 0.90(0.30) (mediana(rango intercuartílico)), evidenciando una fuerte relación entre ellos. Nuestros hallazgos respaldan el uso de d_w para la monitorización no invasiva de hiperkalemia, tanto en el hospital como en entorno ambulatorios.

1. Introducción

Las variaciones en la concentración de potasio (Δ [K⁺]) pueden alterar la secuencia espacio-temporal de la repolarización ventricular, lo que resulta en una dispersión anormal de la repolarización y, por lo tanto, aumenta la susceptibilidad de desarrollar arritmias ventriculares malignas [1,2].

Los pacientes con enfermedad renal crónica (en inglés endstage renal disease, ESRD) [3] presentan altas tasas de arritmias y mortalidad cardiovascular (CV) [1], debido a fluctuaciones de potasio fuera de los rangos fisiológicos (3.5 mmol/l $\leq [K^+] \leq 5$ mmol/l). Actualmente, todas las pruebas rutinarias para evaluar [K⁺] requieren un análisis de sangre, un método invasivo y costoso que limita la monitorización continua [4]. Un índice no invasivo capaz de cuantificar los cambios en los niveles de [K⁺] sería un avance importante para el control continuo tanto en el hospital como en el entorno doméstico.

Las alteraciones en la repolarización ventricular se reflejan en la señal electrocardiográfica (ECG), especialmente en la morfología de la onda T [5]. Se pueden encontrar en la literatura diferentes biomarcadores basados en el análisis de ECG relacionados con los cambios en los niveles de [K⁺], como la relación pendiente-amplitud de la onda T [6] o la pendiente derecha de la onda T [7]. Sin embargo, estos biomarcadores se basan en características específicas de algunas partes de la onda T, mientras que ignoran la información contenida en la morfología de la misma. Por esto, en este estudio hemos investigado la capacidad de d_w , un marcador de ECG obtenido mediante el análisis de timewarping, relacionado con la dispersión de repolarización ventricular [8] para monitorizar cambios en [K⁺] en pacientes con ESRD sometidos a HD.

2. Población y protocolo de estudio

En este estudio se han evaluado 12 pacientes en ESRD sometidos a HD en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza, España. Para cada uno de ellos se recogieron muestras de sangre, de donde se obtuvieron las concentraciones de [K⁺], y un registro Holter ECG de 12 derivaciones durante 48 horas (H12+, Mortara Instruments, Milwaukee, WI, EE. UU.) a una frecuencia de muestreo de 1000 Hz y resolución de amplitud 3.75 μ V.

La Tabla 1 muestra las características de la población. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad Autónoma de Aragón (CEICA, ref. PI18/003) y todos los pacientes firmaron su consentimiento informado. La grabación del ECG comenzó 5 minutos antes del inicio de la HD y duró 48 horas (Figura 1, línea azul).

Simultáneamente al registro Holter, se obtuvieron y analizaron seis muestras de sangre: la primera en correspondencia con el comienzo de la HD y las siguientes tres, cada hora durante la sesión (Figura 1, K1-K4). La quinta muestra se recogió al final de la HD (minuto 215 o 245, dependiendo de la duración de la sesión de HD) mientras que la sexta se tomó a las 48 horas, inmediatamente antes de la siguiente HD.

Características	n=12
Edad (años)	70 (11)
Género (masculino)	7 (58%)
Fármacos anti-arrítmicos (si)	6 (50%)
Duración de la HD	
240 min	10 (83%)
210 min	2 (17%)
Etiología	
Diabetes mellitus	7 (58%)
Nefritis intersticial	1 (9%)
Esclerosis tuberosa	1 (9%)
Otros	3 (25%)
Composición líquido HD	
Potasio (1.5 mmol/L)	12 (100%)
Calcio (3 mmol/L)	8 (67%)

Tabla 1. Características de la población de estudio. Los valores se expresan como número (%) para las variables categóricas y mediana (rango intercuartílico) para las variables continuas.

<		— I	ECG ac	quisition		>	
←		HD			· Post HD —	→	
K1	K2	K3	K4	K5		K6	
05	65	125	185	245		2880	
	Time (min)						

Figura 1. Esquema del protocolo de estudio. K1-K6 son los instantes (expresados en minutos) correspondientes a la extracción de sangre. K5 se tomó al final de la HD (minuto 215 o 245, dependiendo de la duración de la terapia).

3. Métodos

3.1. Pre-procesado

El pre-procesado inicial del ECG incluyó un filtrado pasobajo con frecuencia de corte a 40 Hz para eliminar el ruido muscular y la interferencia de red, seguido de un filtrado paso-alto con corte a 0,5 Hz para atenuar la línea de base. Los complejos QRS se detectaron y delinearon utilizando un delineador basado en la transformada wavelet aplicado a cada una de las 12 derivaciones [9]. Se aplicó análisis de las componentes principales a las 8 derivaciones independientes. Las componentes principales (PCs) se obtuvieron de la matriz de auto-correlación de las ondas T calculada en un segmento de ECG estable al final de la terapia. Luego, todo el registro ECG se proyectó en la dirección dada por la PC1. De esta manera, se maximizó la energía de las ondas T en esta componente, permitiendo una mejor caracterización morfológica [10]. Finalmente, se delinearon las ondas T en PC1 aplicando el mismo método de delineación [9].

3.2. Cuantificación de los cambios en la morfología de las ondas T a través del time-warping

Se seleccionaron las ondas T en ventanas de 2 minutos centradas en el minuto 5 de cada hora disponible, correspondiendo con los instantes K1-K5 (Figura 2(a)), (momento en cual fueron recogidas las muestras de sangre durante la HD). La ventana es lo suficientemente estrecha como para asumir cierta estabilidad en la frecuencia cardiaca y en los niveles de [K⁺]. A partir de las mismas, se calculó una onda T media (Mean Warped T-wave, MWTW) para cada ventana de 2 minutos [8]. Para ello, todas las ondas T dentro de cada ventana se alinearon con respecto al centro de gravedad y se usaron para calcular una MWTW inicial [8]. Solo las ondas T altamente correlacionadas (coeficiente de correlación de Spearman >0.98) con la MWTW inicial se usaron para recalcular la MWTW final, la cual es representativa de la morfología de las ondas T en esa ventana particular. La MWTW que se calcula al final de la HD (en instante K5) se tomó como onda de referencia, ya que es el momento cuando el paciente ha recuperado el nivel normal de [K⁺] y es dado de alta del hospital, por lo tanto sería una referencia apropiada para la monitorización ambulatoria fuera del hospital hasta la próxima sesión de HD.

Consideremos cada MWTW, $f^{s}(t^{s}) =$ $[f^{s}(t^{s}(1)), \dots, f^{s}(t^{s}(N_{s}))]^{T}$, y la MWTW de referencia, $\boldsymbol{f}^{r}(\boldsymbol{t}^{r}) = \left[f^{r}(\boldsymbol{t}^{r}(1)), \cdots, f^{r}(\boldsymbol{t}^{r}(N_{r}))\right]^{T}, \text{ donde}$ $t^r =$ $[t^{r}(1), \cdots, t^{r}(N_{r})]^{T} \mathbf{y} \mathbf{t}^{s} = [t^{s}(1), \cdots, t^{s}(N_{s})]^{T} \mathbf{y} N_{r} \mathbf{y} N_{s}$ son la duración total de t^r y t^s . Como ejemplo, supongamos $f^{s}(t^{s})$ como la MWTW calculada en la primera hora (K1, cuadrado rojo en Figura 2 (a)), entonces $f^{s}(t^{s}) = f^{1}(t^{1}), t^{s} = t^{1} y N_{s} = N_{1}$. La Figura 2 (b) muestra los dos t^r y t^1 MWTWs antes del time-warping. Sea $\gamma(t^r)$ la función de warping que relaciona t^r y t^1 , tal que la composición $[f^1 \circ \gamma](t^1) = f^1(\gamma(t^r))$ denota la re-parametrización o time-warping de $f^1(t^1)$ utilizando $\gamma(\mathbf{t}^r)$. La square-root slope function (SRSF) se propuso en [11] para encontrar la función óptima de warping usando las SRSFs de las ondas T originales. Esta transformación se define como:

$$\boldsymbol{q}_{f}(\boldsymbol{t}) = sign\left(\dot{\boldsymbol{f}}(\boldsymbol{t})\right) \sqrt{\left|\dot{\boldsymbol{f}}(\boldsymbol{t})\right|} \tag{1}$$

La función óptima de warping es la que minimiza la diferencia de amplitud entre la SRSF de $f^r(t^r)$ y $f^1(\gamma(t^r))$ [11]:

$$\begin{aligned} \chi^{*}(\boldsymbol{t}^{r}) &= \arg\min\left(\left\|\boldsymbol{q}_{f^{r}}(\boldsymbol{t}^{r}) - \boldsymbol{q}_{[f^{1}\circ\gamma]}(\boldsymbol{t}^{r})\right\|\right) \quad (2) \\ &\gamma(\boldsymbol{t}^{r}) \\ &= \arg\min\left(\left\|\boldsymbol{q}_{f^{r}}(\boldsymbol{t}^{r}) - \boldsymbol{q}_{f^{1}}(\gamma(\boldsymbol{t}^{r}))\sqrt{\dot{\gamma}(\boldsymbol{t}^{r})}\right\|\right) \\ &\gamma(\boldsymbol{t}^{r}) \end{aligned}$$

Para resolver este problema de optimización se utilizó el algoritmo de programación dinámica [12]. La función óptima de warping $\gamma^*(t^r)$, que relaciona óptimamente $f^r(t^r)$ y $f^1(t^1)$, se muestra en la Figura 2 (c). La onda T warpeada, $f^1(\gamma^*(t^r))$ se muestra en la Figura 2 (d), junto con la onda T de referencia $f^r(t^r)$.

El índice d_w (Figura 2(c)) cuantifica el nivel de warping necesario para alinear de manera óptima las dos ondas T y se define como el valor promedio de la diferencia en valor absoluto entre $\gamma^*(t^r) \ge t^r$:

$$d_{w,1} = \frac{1}{N_r} \sum_{n=1}^{N_r} |\gamma^* (\boldsymbol{t}^r(n)) - \boldsymbol{t}^r(n)|$$
(3)

Este cálculo se repitió para cada MWTW calculada en cada hora.

Las variaciones relativas en $[K^+]$ con respecto a los valores de referencia $([K^+]_r$, final de la terapia) durante cada hora de la sesión de HD $([K^+]_s)$ se calcularon como:



Figura 2. Ilustración del cálculo de d_w . El intervalo RR promedio se muestra en el panel (a) con cuadrados que representan las ventana de medición cuando se calculó el d_w durante la grabación del ECG. El cuadrado rojo relleno es la medida al comienzo de la terapia y el cuadrado azul relleno es el tiempo de referencia al final de la HD. En el panel (b), se muestran la MWTW de referencia (en azul) y la MWTW calculada para la primera hora (en rojo). El panel (c) muestra la función warping (línea roja) que las relaciona de manera óptima y el área verde es la información de deformación total, cuantificada por d_w . El panel (d) muestra las ondas T después del warping.

4. Resultados

Ninguna de las 12 grabaciones de ECG duró 48 horas, principalmente debido a la desconexión de algún electrodo o la descarga de la batería. Esto limitó la asociación entre d_w y la última muestra de [K⁺] (después de 48 horas). Por esa razón, los coeficientes de correlación de Spearman se calcularon considerando solo los primeros cinco valores de Δ [K⁺] y d_w (aquellos obtenidos durante la sesión de HD). Se encontró que la mediana (rango intercuartil) calculada sobre todos los coeficientes de correlación de Spearman intra-sujeto fue 0.90 (0.30), lo que indica una correlación fuerte entre $\Delta[K^+]$ y d_w . La Figura 3 muestra la distribución de $\Delta[K^+]$ y d_w durante la HD.



Figura 3. Distribución de $\Delta[K^+]$ (en azul, eje vertical izquierdo) y d_w (en rojo, eje vertical derecho), calculados en diferentes momentos de tiempo desde el principio hasta el final de la sesión de HD (K1 a K5 en la Figura 1).

5. Discusión

La evaluación del nivel de [K⁺] en sangre generalmente se realiza mediante procedimientos invasivos, basados en muestras de sangre que requieren análisis de laboratorio adicionales. Sin embargo, se sabe que el ECG es capaz de capturar cambios correlacionados con variaciones de [K⁺]. Los pacientes con ESRD sometidos a HD presentan importantes fluctuaciones de nivel de [K⁺] durante el tratamiento, generando variaciones en la señal de ECG. De hecho, durante la primera hora de HD, [K⁺] disminuye rápidamente. Esta caída aguda en [K⁺] es seguida por una disminución más gradual en las siguientes 2 horas. Durante la hora final, [K⁺] permanece casi estable, lo que indica un equilibrio entre las tasas de eliminación de [K⁺] y de reequilibrio desde el espacio intracelular. Después de que finaliza el tratamiento de HD, se produce un "rebote" subagudo de [K⁺] a medida que se produce la movilización continua de [K⁺] del espacio intracelular al extracelular.

Como se mostró en [7], la duración del potencial de acción en los miocitos endocárdicos, miocárdicos medios y epicárdicos se ven afectados de manera diferente por el [K⁺] extracelular y esto se refleja principalmente en el ECG cómo cambios en la morfología de las ondas T. Esto hace que el análisis de los cambios en la morfología de la onda T sea un buen "sensor" de nivel de [K⁺]. En este trabajo, hemos demostrado cómo los cambios de [K⁺] inducidos por HD afectan la morfología de la onda T. Los coeficientes de correlación de Spearman intra-sujeto calculados entre $\Delta[K^+]$ y d_w durante la sesión de HD son notables: el valor de la mediana calculada sobre todos los pacientes es 0.90 y el rango intercuartil es 0.30, apoyando nuestra hipótesis inicial. Basándose en las evidencias proporcionadas en este estudio, d_w se sugiere como un índice no invasivo capaz de capturar fluctuaciones en [K⁺] y podría usarse para su monitorización en pacientes susceptibles a alteraciones en [K⁺]. Su capacidad de predicción de riesgo arrítmico también podría evaluarse en esas poblaciones. La ventaja de d_w como un subrogado automático no invasivo para la monitorización de [K⁺] es que reduciría los costes derivados de la evaluación invasiva

de [K⁺], que actualmente requiere análisis de sangre, haciéndolo especialmente adecuado para el control rutinario fuera del entorno hospitalario.

En este estudio hay varias limitaciones que deben reconocerse. Primero, el número reducido de pacientes incluidos en el estudio limitó el poder estadístico de los resultados. En segundo lugar, la falta de muestras de sangre después de la sesión de HD limita la comparación entre d_w y $\Delta[K^+]$ durante ese período. Sin embargo, la alta correlación entre d_w y $\Delta[K^+]$ abre una nueva puerta a la monitorización no invasiva de los cambios de nivel de $[K^+]$.

Estudios futuros deberían evaluar la correlación entre d_w y las alteraciones en otros electrolitos diferentes al [K⁺], como magnesio o el calcio. Estas variaciones pueden alterar también el ECG y sería interesante analizar su relación con los cambios inducidos de la onda T. Esto podría arrojar más luz sobre las alteraciones del ECG en pacientes en ESRD y el vínculo con la morbilidad y la mortalidad en este tipo de pacientes.

6. Conclusiones

Se ha evaluado un nuevo índice basado en la análisis del ECG, d_w , que refleja la variación en la repolarización ventricular en pacientes en ESRD sometidos a HD y se compara con los cambios en los niveles de [K⁺] a lo largo del tiempo. El índice d_w está altamente correlacionado con los cambios de [K⁺] y podría usarse potencialmente como un indicador no invasivo de niveles anormales de [K⁺].

Agradecimientos

Este trabajo está financiado por Products & Technology S.L. (Castellbisbal, Barcelona, España), y por AGAUR, Generalitat de Catalunya (España). El trabajo también fue apoyado por el proyecto DPI2016-75458-R financiando por MINECO y FEDER, por el Gobierno de Aragón (Grupo de referencia BSICoS T39-17R) cofinanciado por FEDER 2014-2020 "Construyendo Europa desde Aragón" y por Consejo Europeo de Investigación (ERC) a través del proyecto ERC-2014-StG 638284. J. Ramírez agradece el apoyo del acuerdo de subvención Marie Sklodowska-Curie no 786833.

Referencias

- [1] Ortiz A, Covic A, Fliser D, Fouque D, Rossignol P, Massy ZA, Goldsmith D, Kanbay M, Mallamaci F, Vanholder R, Wiecek A, Zoccali C, London GM. Epidemiology, contributors to, and clinical Trials of mortality risk in chronic kidney failure. *Lancet*, vol 383, sup 9931, 2014, pp 1831-43, doi: 10.1016/S0140-6736(14)60384-6.
- [2] Secemsky EA, Verrier RL, Cooke G, Manuchehry A, Ghossein C, Subacius H, Herzog CA, Passman R. High prevalence of cardiac autonomic dysfunction and T-wave alternans in dialysis patients. *Heart Rhythm*, vol 8, sup 4, 2011, pp 592-8, doi: 10.1016/j.hrthm.2010.11.041.

- [3] Bignotto LH, Kallás ME, Djouki RJ, Sassaki MM, Voss GO, Soto CL, Frattini F, Medeiros FS. Electrocardiographic findings in chronic hemodialysis patients. *Brazilian Journal* of Nephrology, vol 34, sup 3, 2012, pp 235-42.
- [4] Hickner J, Graham DG, Elder NC, Brandt E, Dovey S, Emsermann CB, Phillips R. Testing process errors and their harms and consequences reported from family medicine practices: a study of the American Academy of Family Physicians National Research Network. *Quality & Safety in Health Care*, vol 17, sup 3, 2008, pp 194-200, doi: 10.1136/qshc.2006.021915.
- [5] Webster A. Recognising signs of danger: ECG changes resulting from an abnormal serum potassium concentration. *Emergency Medicine Journal*, vol 19, sup 1, 2002, pp 74-7.
- [6] Corsi C, Cortesi M, Callisesi G, De Bie J, Napolitano C, Santoro A, Mortara D, Severi S. Noninvasive quantification of blood potassium concentration from ECG in hemodialysis patients. *International Journal of Scientific Reports*, vol 15, 2017, doi: 10.1038/srep42492.
- [7] Dillon JJ, DeSimone CV, Sapir Y, Somers VK, Dugan JL, Bruce CJ, Ackerman MJ, Asirvatham SJ, Striemer BL, Bukartyk J, Scott CG, Bennet KE, Mikell SB, Ladewig DJ, Gilles EJ, Geva A, Sadot D, Friedman PA. Noninvasive potassium determination using a mathematically processed ECG: proof of concept for a novel "blood-less, blood test". *Journal of Electrocardiology*, vol 48, sup 1, 2015, pp 12-8, doi: 10.1016/j.jelectrocard.2014.10.002.
- [8] Ramírez J, Orini M, Tucker JD, Pueyo E, Laguna P. Variability of Ventricular Repolarization Dispersion Quantified by Time-Warping the Morphology of the T-Waves. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 64, sup 7, 2017, doi: 10.1109/TBME.2016.2614899.
- [9] Martínez JP, Almeida R, Olmos S, Rocha AP, Laguna P. A wavelet-based ECG delineator: evaluation on standard databases. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 51, sup 4, 2004, pp 570-81, doi: 10.1109/TBME.2003.821031.
- [10] Ramírez J, Almeida R, Olmos S, Rocha AP, Laguna P. Characterization of cardiac repolarization response to heart rate changes provoked by a tilt test. *Computing in Cardiology*, vol 39, 2012, pp 673-9.
- [11] Tucker JD, Wu W, Srivastava A. Generative models for functional data using phase and amplitude separation. *Computational Statistics and Data Analysis*, vol 61, 2013, pp 50-60, doi: 10.1016/j.csda.2012.12.001.
- [12] Bertsekas DP. Dynamic Programming and Optimal Control, Vol 1, Athena Scientific, 1995, (ISBN: 1-886529-08-6)

Contacto:

Flavio Palmieri, UPC CREB, Av. Diagonal, 647, 08028, Barcelona (España).

flavio.palmieri@upc.edu

Utilidad de nuevas bandas espectrales en la señal de HRV para ayudar en el diagnóstico de la apnea del sueño infantil

A. Martín Montero¹, G.C. Gutiérrez Tobal¹, D. Álvarez González^{1,2}, F. Vaquerizo Villar¹, V. Barroso García¹, J. Jiménez García¹, L. Kheirandish-Gozal³, 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 Child Health, The University of Missouri School of Medicine, Missouri, EEUU, gozald@health.missouri.ed

Resumen

Este estudio busca alternativas a las bandas clásicamente analizadas de la señal Heart Rate Varuiability (HRV): Very Low Frequency (0-0.04 Hz), Low Frequency (0.04-0.15 Hz) y High Frequency (0.15-0.4 Hz), que proporcionen información específica en la ayuda al diagnóstico de la apnea-hipopnea del sueño (SAHS) pediátrico. Se han analizado registros de 981 niños considerando tres umbrales de severidad (índice de apneahipopnea, IAH = 1, 5 v 10 e/h). Los espectros de frecuencia de los grupos se han comparado estadísticamente, encontrándose cuatro bandas de interés (BW₁-BW₄). Éstas se han caracterizado junto con las bandas clásicas mediante la potencia relativa (RP). Posteriormente, se ha evaluado su rendimiento diagnóstico individualmente, así como de manera conjunta, a través de clasificadores basados en regresión logística (logistic regression, LR) y análisis discriminante lineal (linear discriminant analysis, LDA). El rendimiento diagnóstico individual más alto se obtuvo mediante la RP en BW₂ (0.029 – 0.077 Hz). Además, se observó una correlación significativa con el IAH en dicha banda. Los modelos LR y LDA entrenados con las RPs de BW₁-BW₄ superaron a aquellos que utilizaron la información de las bandas clásicas para todos los puntos de corte. El rendimiento diagnóstico más elevado se obtuvo con LDA para IAH = 10 e/h, empleando la información conjunta de todas las bandas (precisión = 74.2% y AROC = 0.724). Los resultados indican que las nuevas bandas encontradas están relacionadas con el SAHS y que pueden ser más específicas que las clásicas a la hora de analizar las alteraciones causadas en la HRV.

1. Introducción

El síndrome de la apnea-hipopnea del sueño (SAHS) infantil se define como un trastorno de la respiración durante el sueño, caracterizado por un cese intermitente completo del flujo en la vía aérea superior (apnea) y/o una reducción parcial (hipopnea), que deriva en la alteración de la ventilación normal durante el sueño [1]. Se calcula que la prevalencia de la enfermedad se encuentra alrededor del 5.7% de la población pediátrica general [1]. Si no se trata, puede dar lugar a graves consecuencias en la salud y calidad de vida de los pacientes, causando afecciones en el sistema cardiovascular, el sistema nervioso central y en el desarrollo cognitivo de los niños [1].

Para el diagnóstico estándar del SAHS, se emplea como técnica de referencia la polisomnografía (PSG) nocturna [2]. La PSG implica el registro y monitorización de una gran variedad de señales fisiológicas, como el electrocardiograma (ECG), el electroencefalograma (EEG), la saturación del oxígeno en la sangre (SpO_2) y la señal de flujo aéreo (FA). Posteriormente, se analizan dichas señales para derivar el índice de apnea-hipopnea (IAH), el cual índica el número de eventos producidos por hora de sueño, y se emplea para establecer la presencia y estimar la severidad de la enfermedad [2].

Diversos estudios se han centrado en el análisis de la señal de variabilidad del ritmo cardíaco (Heart Rate Variability, HRV), como alternativa a la PSG para el diagnóstico del SAHS [3-9]. Esta señal aporta información relativa a la dinámica del sistema cardiaco y al funcionamiento del sistema nervioso autónomo (SNA) [4]. Se han observado patrones de bradicardia progresiva en presencia de eventos apneicos, seguidos de una taquicardia abrupta cuando finalizan [3]. La presencia de estos eventos de forma recurrente hace del análisis espectral de la señal de HRV una herramienta adecuada para el estudio de las alteraciones que el SAHS provoca en el corazón [4]. De esta forma, varios estudios han realizado un análisis espectral de la señal de HRV en el ámbito del SAHS pediátrico [7-9], siempre enfocados en el análisis de las bandas de frecuencia clásicas de HRV: Very Low Frequency (VLF, 0-0.04 Hz), Low Frequency (LF, 0.04-0.15 Hz) y High Frequency (HF, 0.15-0.4 Hz).

A pesar del análisis habitual de las bandas espectrales clásicas de la señal de HRV, estudios previos realizados sobre adultos con SAHS han mostrado indicios de que podrían existir bandas espectrales con información más específica acerca de la enfermedad [4-6]. Sin embargo, no se han encontrado estudios que busquen y analicen dichas bandas de interés que puedan reflejar las alteraciones que el SAHS provoca en la HRV en niños.

Por los motivos expuestos, la hipótesis de partida del presente estudio es que existen bandas de frecuencia específicas que permiten caracterizar las alteraciones que el SAHS pediátrico causa en la señal de HRV. Por lo tanto, el objetivo principal del estudio es definir bandas espectrales de interés para el SAHS pediátrico en la señal de HRV y comparar su rendimiento diagnóstico frente al empleo de las bandas espectrales clásicas.

2. Sujetos y señales

Se ha llevado a cabo el análisis de la señal de HRV de un total de 981 sujetos pediátricos. Todos los sujetos eran sospechosos de padecer SAHS, por lo que fueron sometidos a una PSG en la Unidad Pediátrica del Sueño del *Comer Children's Hospital* de la Universidad de Chicago (EE.UU.), donde se registraron las señales de ECG con frecuencias de muestreo de 200 Hz y 500 Hz. En todos los casos se obtuvo la aprobación del Comité Ético de la Universidad de Chicago, así como el consentimiento de los tutores legales de los niños.

295

Para el diagnóstico de los sujetos, los especialistas emplearon el IAH extraído de la PSG, siguiendo las reglas de la American Academy of Sleep Medicine (AASM) [2]. En pediatría, generalmente se asocia un IAH < 1 evento/hora (e/h) con la ausencia de SAHS, 1 e/h \leq IAH <5 e/h con SAHS leve, 5 e/h \leq IAH < 10 e/h con SAHS moderado y IAH \geq 10 e/h con SAHS severo [2,10], siendo estos los puntos de corte elegidos como umbrales de decisión para el estudio. La población inicial se dividió aleatoriamente en un grupo de entrenamiento (60%) y test (40%) para poder desarrollar y evaluar la metodología propuesta. La Tabla 1 recoge los datos demográficos y clínicos tanto de la población total como de los grupos de entrenamiento y test. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de entrenamiento y el grupo de test en sexo (p-valor > 0.05, test Chi-cuadrado), ni tampoco en edad, el índice de masa corporal o el IAH (p-valor > 0.05, test de Kruskal-Wallis).

Los registros de HRV fueron extraídos de las señales de ECG recogidas durante la PSG. En primer lugar, se aplicó un algoritmo de detección del complejo QRS, obteniéndose el instante del pico R para cada latido [11]. A continuación, se eliminaron los latidos considerados como fisiológicamente imposibles, es decir, que no cumplían alguno de los siguientes criterios [3]: i) 0.33 s < intervalo entre latidos < 1.5 s y ii) la máxima diferencia entre intervalos consecutivos permitida fue de 0.66 s. Finalmente se interpoló la señal de HRV resultante mediante interpolación lineal a una frecuencia de 3.41 Hz [3-4].

3. Metodología

3.1. Densidad espectral de potencia

La estimación de la densidad espectral de potencia (*Power Spectral Density*, PSD), se realizó mediante el método no paramétrico de Welch [12]. Se utilizó una ventana de Hamming de 2¹⁰ puntos (50% de solapamiento) y una longitud de transformada discreta de Fourier de 2¹¹ puntos para estimar la PSD. Posteriormente, se normalizó la PSD (PSD_n) de cada sujeto dividiendo los valores de amplitud entre la potencia espectral total.

3.2. Determinación de bandas espectrales de interés

La definición de las bandas espectrales de interés se realizó mediante la búsqueda de diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos de severidad de SAHS del conjunto de entrenamiento. Se aplicó el test no paramétrico U de Mann-Whitney a los valores de amplitud de las PSDs normalizadas para cada valor de frecuencia. La Figura 1 muestra los *p*-valores resultantes de cada uno de los test estadísticos. Se eligieron aquellas regiones en las que, tras aplicar la corrección de Bonferroni, se observó solapamiento entre al menos dos de las comparaciones por debajo del umbral de 0.05 (*p*-valor < 0.05). En base a este procedimiento, se encontraron cuatro bandas de frecuencia, sombreadas en gris sobre la Figura 1:

- − **BW₁:** 0.001 − 0.005 Hz.
- − **BW₂:** 0.029 − 0.077 Hz.
- − **BW₃:** 0.263 − 0.296 Hz.
- BW₄: 0.469 0.602 Hz.

	Todos	Entrenamiento	Test
# sujetos	981	589	392
Edad (años)	6.08 ± 3.44	6.07 ± 3.42	6.09 ± 3.46
Sexo (M/F)	602/379	348/241	254/138
IMC (kg/m ²)	20.22 ± 6.63	20.25 ± 6.86	20.17 ± 6.29
IAH (e/h)	9.29 ± 17.19	10.26 ± 19.53	7.83 ± 12.77
$IAH \ge 1$ (e/h)	808 (82.4%)	493 (83.7%)	315 (80.3%)
$IAH \ge 5 (e/h)$	407 (41.5%)	261 (44.3%)	146 (46.3%)
$IAH \ge 10 (e/h)$	229 (23.3%)	146 (24.8%)	83 (21.2%)
1 7 1 2 1 1			

* IMC: índice de masa corporal

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de los sujetos



Figura 1. p-valor para cada frecuencia en cada una de las comparaciones entre los grupos de severidad de SAHS tras aplicar la corrección de Bonferroni. En gris se han sombreado las bandas de interés obtenidas.

3.3. Análisis espectral

Para caracterizar la actividad espectral de las bandas de frecuencia se ha empleado la potencia relativa (*Relative Power, RP*) en cada una de las 7 bandas consideradas (VLF, LF, HF, $BW_1 - BW_4$). Se trata de un parámetro espectral que aporta información sobre la distribución de potencia de la señal a lo largo de las componentes frecuenciales, y se calcula mediante la siguiente formula:

$$RP \ Banda = \frac{\sum_{f=f_{ini}}^{f=f_{fin}} PSD_n(f)}{\sum_{f=0}^{f=f_{ini}} PSD_n(f)}$$
(2)

donde f_{ini} y f_{fin} son las frecuencias inicial y final de cada banda y f_s es la frecuencia de muestreo de HRV tras interpolar (3.41 Hz).

3.4. Clasificación

Para comparar el rendimiento de la *RP* extraída en las bandas clásicas frente a la extraída en las bandas de interés, se evaluó en primer lugar el rendimiento diagnóstico de cada característica por separado mediante un análisis de curvas *receiver-operating characterístics* (ROC) para cada uno de los umbrales de severidad considerados.

Posteriormente, se evaluó la capacidad diagnóstica conjunta de las *RP* en las bandas de interés frente a las *RP* en las bandas clásicas. Para ello, se emplearon técnicas convencionales de reconocimiento de patrones para la clasificación binaria con los tres umbrales de severidad considerados. Se evaluaron por lo tanto tres modelos en el

grupo de test, uno con todas las RP de las bandas de interés, otro con las RP de las bandas clásicas, y finalmente un modelo con las RP de las 7 bandas consideradas en el estudio. Se emplearon dos métodos de clasificación:

- Regresión logística (*logistic regression*, LR): Calcula la probabilidad *a posteriori* de pertenecer a una u otra clase en función de las características introducidas. Para ello, se estiman los coeficientes del modelo LR empleando el algoritmo de máxima verosimilitud [13].
- Análisis discriminante lineal (*linear discriminant analysis*, LDA): Algoritmo de aprendizaje supervisado que divide el espacio de características de entrada en regiones de decisión, siendo la frontera que las separa una función líneal. Determina la función discriminante lineal para las características de entrada, y se asigna el grupo para el que el discriminante sea mayor.

3.5. Análisis estadístico

Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman (ρ_s) para evaluar relaciones entre las potencias obtenidas en cada una de las bandas con el IAH. La evaluación de la capacidad diagnóstica tanto de las potencias de cada banda de forma individual, como de los modelos construidos para los dos clasificadores, se llevó a cabo en el grupo de test en términos de sensibilidad (*S*), especificidad (*E*), precisión (*P*) y área bajo la curva ROC (*AROC*).

4. Resultados

La Tabla 2 muestra el rendimiento diagnóstico en el grupo de test para cada una de las RP en las bandas incluidas en el estudio, así como los resultados del estudio de correlaciones con el IAH (ρ_S y *p*-valor). Para el umbral de IAH en 1 e/h, se han obtenido el mayor rendimiento diagnóstico para RP BW₁ en términos de *P* (56.1%) y para RP BW₂ en términos de AROC (0.597). Para el umbral de IAH en 5 e/h, los valores más altos de *P* y *AROC* se han obtenido para RP BW₂ (65% y 0.658, respectivamente). Para el umbral de IAH en 10 e/h, de nuevo se obtienen los valores más elevados de *P* y AROC para RP BW₂ (65% y 0.686 respectivamente). En lo referente al estudio de correlaciones, se han obtenido correlaciones positivas estadísticamente significativas (*p*-valor < 0.05) entre el IAH y RP BW₂, RP BW₄ y RP LF.

Las Tablas 3 y 4 contienen los resultados de clasificación obtenidos en el grupo de test para los distintos modelos LR y LDA, respectivamente. Para el umbral en 1 e/h, la *P* más elevada (55.9%) se alcanza para la *RP* en las bandas de interés con LDA, mientras que la *AROC* más alta (0.634) se consigue con todas las *RP* empleando LR. Para el

umbral de 5 e/h, la *P* y *AROC* más elevada se obtienen empleando la *RP* en todas las bandas con LR (65.6% y 0.698 respectivamente). Finalmente, el rendimiento diagnóstico más alto en el umbral de 10 e/h se consigue para todas las *RP* consideradas utilizando LDA (P = 74.2%y *AROC* = 0.724).

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se han buscado bandas de frecuencia que mostrasen una mayor utilidad que las bandas clásicas empleadas para caracterizar las alteraciones que el SAHS infantil provoca en la actividad de HRV. El análisis basado en las PSDs de los distintos grupos de severidad considerados ha dado lugar a cuatro nuevas bandas de frecuencia de interés. Al evaluar el rendimiento diagnóstico individual de las RP en las distintas bandas para los puntos de corte de IAH = 1, 5 y 10 e/h, los valores más elevados de P se han obtenido en alguna de las bandas de interés encontradas (BW1 para 1 e/h y BW2 para los otros dos umbrales), y la AROC más alta se ha obtenido para BW₂ en los tres puntos de corte considerados. El hecho de que en todos los puntos de corte el rendimiento diagnóstico más alto se obtengan para algunas de las bandas de interés encontradas muestra la utilidad de la propuesta realizada en el estudio, destacando especialmente la banda BW₂.

La duración típica de eventos apneicos en adultos se sitúa entre 20 y 40 segundos (0.025-0.050 Hz) habiéndose observado en estudios previos de FA que en el SAHS en adultos esa banda presenta las mayores diferencias [4]. BW₂ refleja eventos con periodicidad entre 12 y 34 segundos aproximadamente. La diferencia en la anotación de eventos apneicos en niños [2], junto con esas periodicidades, podrían indicar que los patrones de bradicardia y taquicardia típicos de la señal HRV en SAHS se encuentran reflejados entre la banda VLF y la banda LF, mostrando por lo tanto que BW₂ es más específica para el SAHS infantil que las bandas clásicas.

El estudio de correlaciones con el IAH ha mostrado una correlación estadísticamente significativa para las bandas BW_2 , BW_4 y LF. Los valores de ρ_S son positivos en los tres casos, siendo la más elevada para BW_2 (0.264. con *p*-valor << 0.05), lo que indica que, conforme aumenta la severidad del SAHS, aumenta la *RP* en esas bandas. La alteración de *RP* a causa del SAHS observada en la HRV es coherente con estudios previos en niños que evaluaron las relaciones entre cambios en la HRV y cambios fisiológicos debidos a la hipoxia periódica que tiene lugar a causa de los eventos apneicos característicos del SAHS [7–9].

En cuanto a los resultados obtenidos para la clasificación

C (Umbral 1 e/h			Umbral 5 e/h			Umbral 10 e/h				Correlación con IAH			
Caract.	S (%)	E (%)	P (%)	AROC	S (%)	E (%)	P (%)	AROC	S (%)	E (%)	P (%)	AROC	$ ho_S$	<i>p</i> -valor
$RP BW_1$	58.4	46.7	56.1	0.551	58.9	44.3	49.7	0.539	56.6	57.9	57.6	0.573	-0.084	0.094
$RP BW_2$	48.9	70.1	53.1	0.597	54.1	71.5	65.0	0.658	56.6	67.3	65.0	0.686	0.264	<<0.05
$RP BW_3$	60.6	35.1	55.6	0.534	58.2	49.2	52.5	0.542	48.2	60.5	57.9	0.555	-0.055	0.276
$RP BW_4$	50.2	37.7	47.7	0.541	46.6	61.4	55.9	0.560	48.2	60.2	57.6	0.563	0.108	< 0.05
RP VLF	61.6	32.5	55.9	0.536	53.4	47.1	49.4	0.515	49.4	52.7	52.0	0.501	-0.007	0.892
RP LF	49.2	58.4	51.0	0.536	61.0	49.2	53.6	0.583	63.9	46.6	50.3	0.607	0.123	< 0.05
RP HF	48.25	51.9	49.0	0.512	53.4	55.3	54.6	0.561	44.6	60.5	57.1	0.557	-0.077	0.123

Tabla 2. Rendimiento diagnóstico de cada RP en cada banda procedente de un análisis de curvas ROC. Se incluyen también los resultados del estudio de correlaciones entre las RPs y el IAH. Se resaltan los resultados más elevados para cada estadístico en cada umbral.

Modelo	Umbral (e/h)	S (%)	E (%)	P (%)	AROC
D 1	1	53.6	61.0	55.1	0.597
Bandas	5	56.2	65.4	62.0	0.667
Interes	10	62.6	69.3	67.9	0.703
ו ת	1	55.6	46.7	53.8	0.517
Clásicos	5	52.0	60.2	57.1	0.584
Clasicas	10	48.2	63.7	60.5	0.610
To dog log	1	53.3	64.9	55.6	0.634
hondos	5	65.7	65.4	65.6	0.698
Danuas	10	59.0	73.8	70.7	0.752

Tabla 3. Rendimiento diagnóstico de los modelos construidos con LR para los distintos umbrales. Se resaltan los resultados más elevados para cada estadístico en cada umbral.

Modelo	Umbral (e/h)	S (%)	E (%)	P (%)	AROC
D 1	1	55.2	58.4	%) P (%) 8.4 55.9 7.5 63.8 8.1 69.4 5.4 53.0 .0 57.1 5.4 61.8 8.4 54.8 7.5 64.3 8.6 74.2	0.586
Bandas Interás	5	56.2	67.5	63.8	0.665
meres	10	55.4	73.1	69.4	0.704
Dandas	1	54.9	45.4	53.0	0.511
Clásicas	5	50.7	61.0	57.1	0.584
Clasicas	10	47.0	65.4	61.8	0.611
Todas las	1	54.0	58.4	54.8	0.618
bandas	5	58.9	67.5	64.3	0.690
Uanuas	10	57.8	78.6	74.2	0.724

Tabla 4. Rendimiento diagnóstico de los modelos construidos con LDA para los distintos umbrales. Se resaltan los resultados más elevados para cada estadístico en cada umbral.

con LR y LDA, cabe destacar que en ambos casos los resultados de las RP en las bandas de interés han sido más elevados que los obtenidos para las bandas clásicas en todos los puntos de corte de IAH. Además, la máxima P y AROC alcanzada se ha conseguido en el modelo construido empleando la RP de las 7 bandas, mostrándose que el análisis de las bandas de interés descubiertas en el estudio añade información nueva para evaluar las alteraciones que el SAHS infantil provoca en la señal de HRV.

El estudio presenta algunas limitaciones que deben ser consideradas. En primer lugar, aunque la base de datos empleada es considerablemente mayor que la del resto de estudios encontrados en el ámbito del SAHS pediátrico, sería conveniente aumentar el número de sujetos, especialmente para tratar de equilibrar la población de los distintos grupos de severidad. Por otro lado, aunque el objetivo del estudio no era conseguir una elevada precisión diagnóstica, sino mostrar una mejora en las bandas de interés, los resultados de clasificación obtenidos son moderados, especialmente para los umbrales de IAH más bajos. Por ello, es objeto futuro de estudio la extracción de características adicionales de la señal de HRV, así como el empleo de técnicas de clasificación más complejas.

En resumen, tras analizar las PSDs de entrenamiento en cuatro grupos de severidad de SAHS infantil, se han definido cuatro nuevas bandas espectrales de interés. Dos de ellas, junto con la banda LF, mostraron correlaciones significativas con el IAH. Además, tanto al evaluar el rendimiento diagnóstico individual de cada banda, así como al enfrentar las RP de las bandas clásicas frente a las RP de las bandas de interés, los resultados de clasificación de las bandas de interés han sido más elevados. Todo ello indica que las bandas encontradas están relacionadas con la patología, y que son útiles a la hora de analizar las alteraciones que el SAHS pediátrico causa en la señal de HRV de una forma más específica que las bandas clásicas.

Agradecimientos

El estudio fue financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y FEDER (DPI2017-84280-R) y la 'European Commission' y FEDER (POCTEP 0378_AD_EEGWA_2_P). A. Martín cuenta con un contrato predoctoral para la Formación de Personal Investigador (FPI) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. F. Vaquerizo cuenta con un contrato predoctoral para la Formación de Profesorado Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. V. Barroso cuenta con una ayuda concedida por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo. J Jiménez cuenta con una ayuda para la contratación de personal técnico de apoyo a la investigación cofinanciada por el Fondo Social Europeo y la Iniciativa de Empleo Juvenil.

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] R. B. Berry *et al.*, "Rules for scoring respiratory events in sleep: Update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events," *J. Clin. Sleep Med.*, vol. 8, no. 5, pp. 597–619, 2012.
- [3] T. Penzel *et al.*, "Comparison of Detrended fluctuation analysis and spectral analysis of heart rate variability in Sleep and Sleep Apnea," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 50, no. 10, pp. 1143–1151, 2003.
- [4] G. C. Gutiérrez-Tobal *et al.*, "Assessment of time and frequency domain entropies to detect sleep apnoea in heart rate variability recordings from men and women," *Entropy*, vol. 17, no. 1, pp. 123–141, 2015.
- [5] J. Gomez-Pilar et al., "Extracción y selección de características de la señal de variabilidad del ritmo cardiaco para la ayuda al diagnóstico del síndrome de apnea hipopnea del sueño," in XXX Congreso Anual de La Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (Caseib 2012), 2012, pp. 381–384.
- [6] J. Gomez-Pilar et al., "Classification Methods from Heart Rate Variability to Assist in SAHS Diagnosis," in XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013, 2013, pp. 25–28.
- [7] A. Baharav *et al.*, "Autonomic cardiovascular control in children with obstructive sleep apnea," *Clin. Auton. Res.*, vol. 9, no. 6, pp. 345–351, 1999.
- [8] D. Liao *et al.*, "Sleep-disordered breathing and cardiac autonomic modulation in children," *Sleep Med.*, vol. 11, no. 5, pp. 484–488, 2010.
- [9] A. Van Eyck *et al.*, "Sleep disordered breathing and autonomic function in overweight and obese children and adolescents," *ERJ Open Res.*, vol. 2, no. 4, pp. 1–8, 2016.
- [10] H.-L. Tan *et al.*, "Overnight polysomnography versus respiratory polygraphy in the diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea," *Sleep*, vol. 37, no. 2, pp. 255–260, 2014.
- [11] D. Benitez et al., "The use of the Hilbert transform in ECG signal analysis," Comput. Biol. Med., vol. 31, no. 5, pp. 399–406, 2001.
- [12] P. D. Welch, "The Use of Fast Fourier Transform for the Estimation of Power Spectra: A Method Based on Time Averaging Over Short, Modified Periodograms.," *IEEE Trans. Audio Electroacoust.*, vol. AU-15, no. 2, pp. 70–73, 1967.
- [13] D. Hosmer et al., Applied Logistic Regression. New York: John Wiley and Sons, 2000.

Groupwise Deep Learning-based Approach for Motion Compensation. Application to Compressed Sensing 2D Cardiac Cine MRI Reconstruction

E. Martín González, P. Casaseca de la Higuera, L. San José Revuelta, C. Alberola López

Laboratorio de Procesado de Imagen, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, emargon@lpi.tel.uva.es, {jcasasec, luismiguel.sanjose, caralb}@tel.uva.es

Abstract

Cardiac cine MRI reconstruction with motion compensation strategies have shown competitive results in the field but the associated registration algorithms are iterative in nature and very time-consuming. Recently, deep learning has excelled in different imaging applications, including segmentation and (pairwise) registration. Our proposal makes use of a deep learning approach to achieve groupwise registration applied to undersampled dynamic MRI reconstruction. We create the reference image for groupwise registration by minimizing a metric in a manifold. Results show the competitive performance of our algorithm in terms of reconstruction quality, together with a remarkable reduction in reconstruction times.

1. Introduction

2D Breath-hold (BH) cardiac cine MRI is the most common clinical protocol employed for the assessment of both the anatomy and the function of the heart. However, drawbacks have been documented and alternatives have been proposed, with 3D free breathing (FB) being rendered as the natural extension. However, regardless the dimensions or the BH/FB property, acquisition times are still long so faster solutions are demanded. A tremendous effort has been carried out in overcoming this issue using strategies such as aggressive undersampling, fancy trajectories or powerful optimization algorithms [1].

Exploiting redundancy has been the cornerstone. To this end, reconstruction methods based on motion estimation and compensation (ME/MC) have been reported [2,3] and groupwise (GW) registration-based approaches have shown higher performance [3,4], since the reference is created with information from the entire temporal sequence, in contrast to those using pairwise registration. The problem with these methods is their higher computational cost, due to the complexity of the operations carried out, and their iterative nature.

Recently, deep learning (DL) solutions have emerged in the field of dynamic image reconstruction, where the optimization problem is unrolled. These type of solutions aim at an overall speed-up as well as eliminating the need of hyperparameter tuning [5]. Additional efforts have been reported with recurrent neural networks to avoid the need of unrolling the optimization process [6]. We are aware of one attempt of GW registration through DL [7]. In this case, the authors use a very involved architecture with a large number of parameters as well as several skip connections. Their application domain involves multimodal static images, i.e. the cardiac domain is not dealt with and, overall, it is not intended for image reconstruction.

In this paper we describe an intermediate approach between handcrafted and deep learning solutions, the purpose of which is to maintain the classical optimization pipeline but to replace the ME/MC stage by means of a deep-learning based solution [8-10]. We show that computational costs are diminished while keeping an acceptable performance.

2. Methods

As mentioned before, the objective of this work is to perform the registration of cardiac cine MRI with DL in such a way that the execution time is reduced. The motion vector fields (MVFs) obtained through registration are included in the ME/MC step that takes place in the reconstruction, so that the overall execution time of the end-to-end reconstruction process is also reduced, without compromising the quality of the reconstructions.

In GW registration, the whole image set is registered to a reference image, taking all the images into the reference space and making the dynamic sequence seem frozen. As an example of a traditional algorithm we will focus on [3], where the metric used in the optimization problem of the GW registration involves a term that causes the reference to be created on the fly. This metric is given by:

$$V = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^{N} \left(m_n(T_n) - \frac{1}{N} \sum_{n'=1}^{N} m_{n'}(T_{n'}) \right)^2$$

where N is the number of frames that make up the sequence, m_n represents each of the frames and T_n represents the transformation associated to each frame obtained during registration.

We resort to the selection of the reference by minimizing the geodesic distance of images to the template on a

299

manifold using the construction of a kNN graph, as described in [11], that is, the construction of an empirical manifold. Specifically, the steps to be carried out to find the reference using this method are the following:

- a) define the similarity between two frames, the residual complexity in this case,
- b) construct the connected kNN graph based on that similarity, where k is the number of neighbors (the higher the k value, the more connected the graph will be),
- c) compute the geodesic distance of every node in the graph
- d) select the node, i.e. the frame, with a minimum sum of distances from the rest of the frames. This frame will be taken as the reference.

This procedure is dynamic through the iteration process (this is denoted as "DL auto" in Table 1 and Figure 2). Alternatively, one of the frames in the set can be arbitrarily chosen as the template (denoted as "DL arbitrary" in Table 1 and "DL(i)" in Figure 2).

As for the registration step, we use the architecture Voxelmorph [8]. This architecture was trained with a set of 18.690 images of the heart (623 slices x 30 frames per slice) in a short axis configuration with different orientations and breath-hold acquisition, which belong to a database of 89 subjects, in which both subjects affected by hypertrophic cardiomyopathy and healthy subjects are found. Before training the system, the entire training set was resampled to the resolution of $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and it was then intensity-normalized. From these images a region of interest (ROI) of 160x192 pixels was extracted, in which the heart is centered, which is where the movement is concentrated.

The network model was trained with ten epochs; for each epoch, given a slice, each frame was used as a reference for the other 29 constituent frames of that slice; so for one single epoch it performs 542010 iterations. It should be noted that the loss function used during training was modified with respect to the initial proposal in [8], since it introduces an approximation leading to inaccuracies in boundary regions. This was supplemented by eliminating such an assumption.

The reconstruction itself is carried out following a classical optimization procedure based on a data fidelity term and a regularization term. In this second term, sparsity is fostered by means of calculating the temporal total variation of the registered image set; this is where the groupwise MC operator is applied [3]. Specifically, the reconstruction problem is defined by:

$$\min_{m} \frac{1}{2} \|y - Em\|_{\ell_{2}}^{2} + \lambda \|\Phi T_{\Theta}m\|_{\ell_{1}}$$

where Φ is the sparsifying transform, \mathbf{T}_{Θ} is a groupwise MC operator, \boldsymbol{m} and \boldsymbol{y} are the dynamic MRI image to be reconstructed and the under-sampled k-t data, respectively. The encoding operator \boldsymbol{E} performs a frame-by-frame undersampled spatial Fourier transform and includes the multiplication by coil sensitivities needed in multi-coil

acquisitions [3]. The optimizer used for the overall problem is the NESTA algorithm based on the Nesterov method [12].

The reconstruction pipeline we are following is, therefore, the one shown in Figure 1. The green box, which includes the reference selection and the DL registration, is the block which replaces the traditional iterative GW registration. This block together with the second NESTA block is repeated 3 iterations (*i* in Figure 1), so that the solution is refined.



Figure 1. Explanatory diagram of the reconstruction pipeline

3. Results

The main characteristics of the data used in the experiments are: field of view (FOV): 320x320 mm², number of frames: 16.

We will concentrate on results for an acceleration factor of 15 (AF=15), which is approximately the AF that has been used in the past for whole heart single BH accelerated reconstruction [13]. As for this proof of concept, motion MVFs have been limited for our DL solution to a ROI around the heart and the rest of the image has been filled with null MVFs. Since registration with the original method [3] has been carried out on the whole image, this method is used as an upper bound of our performance.

Results are shown in terms of SSIM, SER and Sharpness index in Table 1. We also show performance of the non-ME/MC solution (referred to as NESTA in the table) as well as the original solution [3].

	SSIM	SER	S-index
NESTA	0,7673	39,2182	81,9149
GW Reg.	0,7837	50,9592	91,0227
Reg. DL arbitrary*	0,7694	44,1374	97,1737
Reg. DL auto k=3	0,7712	44,8930	98,7189
Reg. DL auto k=4	0,7712	44,8930	98,7189
Reg. DL auto k=5	0,7713	45,0191	98,8158
Reg. DL auto k=6	0,7713	45,0191	98,8158

 Table 1. Structural similarity (SSIM), signal to error ratio (SER) and sharpness index (S index).



Figure 2. SSIM, SER and Sharpness index graphs for a better understanding of the results.



Figure 3. Reconstructed images corresponding to the frame 11 of the sequence. From left to right: (a) fully sampled reconstruction, (b) non-ME/MC solution, and (c) ME/MC solution with DL registration using automatic reference selection with k=4 for the construction of the kNN graph

In order to provide aggregate metrics for the sequence, we obtained the value for each frame and then calculated the mean. For reconstructions with DL registration with arbitrary reference, the median value obtained from using each of the frames of the sequence as a reference is shown.

In Figure 2, it can be seen the worse behaviour of the non-ME/MC solution with respect to our ME/MC solution with DL. It can also be observed the difference between arbitrary and automatic reference selection. The best reference tends to be situated centered in the cardiac cycle although we have observed remarkable sensitivity to slight shifts in the chosen template.

4. Discussion

Performance in terms of SSIM shows higher for our GW method than for the NESTA solution. As for the methods with arbitrary templates, our solution shows comparable results or even slightly better, so in practice it is preferable to use "DL Auto" since we do not know a priori what the preferred reference would be (Figure 2). Differences are clearly observed in terms of SER and sharpness index; taking a look at the figures of reconstructions (see Figure 3), the solution for the non-ME/MC solution is more affected by blurring despite the relatively high value of SSIM.

In terms of computational time, the classical registration takes 200% longer than our method; this clearly indicates

that our solution has comparable performance in terms of reconstruction while reconstruction time is clearly reduced.

5. Conclusion

The use of DL and GW methodologies for registration has provided promising results for ME/MC cardiac reconstruction with much lower computational costs. Alternatives for GW methods in which the reference template is calculated on the fly will be explored, as well as the use of the full image via the DL-GW registration.

Acknowledgements

The authors acknowledge Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades for research grant TEC2017-82408-R and the Junta de Castilla y León for grant VA069U16. We would also like to thank the European Social Fund, Castilla y León Operational Programme, and Junta de Castilla y León, through the Consejería de Educación.

References

- Feng L, et al. 5D whole-heart sparse MRI. Magn. Reson. Med. 2018;79(2):826-838
- [2] Asif M.S, et al. Motion-adaptive spatio-temporal regularization for accelerated dynamic MRI. Magn. Reson. Med. 2013;70(3):800-812.
- [3] Royuela-del-Val J, et al. Nonrigid groupwise registration for motion estimation and compensation in compressed sensing

reconstruction of breath-hold cardiac cine MRI. Magn. Reson. Med. 2016;75(4): 1525-1536.

- [4] Menchón-Lara, R.M, et al. Motion compensated 5D freebreathing whole-heart isotropic CINE MRI. An approach based on elastic groupwise registration to promote sparsity. 2017. https://www.researchgate.net/ Accessed November 7, 2018.
- [5] Schlemper J, et al. A deep cascade of convolutional neural networks for dynamic MR image reconstruction. IEEE Trans. Med. Imag. 2018;37(2):491-503.
- [6] Qin C, et al. Convolutional recurrent neural networks for dynamic MR image reconstruction. IEEE Trans. Med. Imag. 2018.
- [7] Che T, et al. Deep group-wise registration for multi-spectral images from fundus images. IEEE Access 7 2019:27650-27661.
- [8] Balakrishnan G, et al. An unsupervised learning model for deformable medical image registration. in CVPR. 2018:9252-9260.

- [9] Krebs J, et al. Learning structured deformations using diffeomorphic registration. arXiv preprint. 2018; arXiv:1804.07172.
- [10] Shan S, et al. Unsupervised End-to-end Learning for Deformable Medical Image Registration. arXiv preprint. 2017; arXiv:1711.08608.
- [11] Feng Q, et al. Liver DCE-MRI registration in manifold space based on robust principal component analysis. Sci. Rep. 2016;6:34461.
- [12] Becker S., Bobin J., and Candes E. Nesta: A fast and accurate first- order method for sparse recovery. *SIAM Journal on Imaging Sciences*, 4(1):1–39, 2011.
- [13] Royuela-del-Val J, et al. Whole-Heart Single Breath-Hold Cardiac Cine: A Robust Motion-Compensated Compressed Sensing Reconstruction Method. In Reconstruction, Segmentation, and Analysis of Medical Images 2016;58-69.

Influencia de la reserva cognitiva en los patrones neurofisiológicos asociados a la evolución de la enfermedad de Alzheimer

V. Rodríguez-González¹, V. Gutiérrez-de Pablo¹, J. Poza¹, C. Gómez¹, M.A. Tola-Arribas², M. Cano del Pozo³, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, jesus.poza@tel.uva.es
² Servicio de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

³ Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) tiene un gran impacto en nuestra sociedad, especialmente en los países occidentales. Existen muchos factores que condicionan su progresión, tales como la edad, el sexo, la genética o la reserva cognitiva (RC). La influencia de la RC no ha sido apenas estudiada, por lo que en este estudio se explora su influencia en la actividad neuronal. Para ello se extrajeron parámetros espectrales y no lineales a partir de la activación de las fuentes cerebrales estimadas con registros de electroencefalograma. Se empleó una base de datos de 169 sujetos divididos en 5 grupos que reflejaran el continuo de la enfermedad: 45 controles, 23 pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) estable, 19 pacientes con DCL que han progresado a demencia, 50 pacientes con demencia leve por EA y 32 pacientes con demencia moderada por EA. Los resultados indican que la RC influye en los parámetros neurofisiológicos, de manera que una RC alta provee de una mayor resiliencia frente a los déficits funcionales, cognitivos y de memoria que aparecen conforme avanza la demencia. En conclusión, la RC es un factor a considerar en los estudios en los que se pretende caracterizar los cambios de la actividad cerebral en la demencia por EA para evitar sesgos en los resultados.

1. Introducción

La demencia debida a la enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa que produce alteraciones cognitivas, funcionales y conductuales de manera progresiva [1]. Constituye el tipo de demencia más común en los países occidentales y tiene un gran impacto socioeconómico, debido al incremento en la esperanza de vida. Se estima que en 2050 se alcanzarán los 132 millones de afectados [2]. En España afecta a unas 900.000 personas, lo que supone un impacto económico estimado de 24.200 millones de euros [2].

La progresión del deterioro cognitivo debido a EA puede estar condicionada por diversos factores, como la edad, el sexo y la genética [3]. De todos ellos, la edad es considerado es el más importante para desarrollar esta que enfermedad, su incidencia ya aumenta exponencialmente con este factor de riesgo [3]. También se ha observado que el sexo de la persona condiciona la prevalencia de la enfermedad, con una mayor incidencia en mujeres [3]. Asimismo, estudios genéticos apuntan a que los portadores del alelo ApoE-ɛ4 muestran una elevada correlación con una mayor afectación de diversos dominios cognitivos y funcionales [3]. Numerosas investigaciones sugieren que los factores anteriores afectan a la actividad cerebral [3]-[5], por lo que se suelen tener en cuenta a la hora de estudiar cómo afecta la demencia por EA a la dinámica neuronal.

Un factor adicional a los anteriores es la reserva cognitiva (RC). Se define como la capacidad del cerebro adulto para minimizar las manifestaciones clínicas de cualquier proceso neurodegenerativo [4], [5]. Una RC elevada se asocia con una capacidad inherente al individuo o con el resultado de los efectos de las experiencias vitales (e.g. educación, sociabilización, ocupación laboral, etc.) [6]. Recientes investigaciones apoyan la hipótesis de que la progresión del deterioro cognitivo por EA puede verse influida en gran medida por la RC, pudiendo constituir un factor de resiliencia frente a la manifestación clínica de la patología [4]. Sin embargo, el papel que juega la RC en la alteración de la actividad cerebral conforme progresa la demencia apenas ha sido analizado. Unos pocos estudios han abordado su influencia en el metabolismo cerebral mediante tomografía por emisión de positrones, o en la conectividad cerebral con imágenes de resonancia magnética funcional [7]-[9]. Son aún más escasas las investigaciones que utilizan técnicas neurofisiológicas, como la electroencefalografía (EEG), si bien sugieren que la RC puede ser importante a la hora de entender las alteraciones en la dinámica neuronal asociadas al avance de la demencia por EA [10].

En base a las ideas anteriores, en el presente trabajo se ha analizado cómo afecta la reserva cognitiva a la actividad EEG conforme progresa el deterioro cognitivo debido a la EA, estudiando a su vez la relación con las alteraciones funcionales, cognitivas y de memoria que aparecen conforme evoluciona este proceso. Para cuantificar los cambios en la actividad neuronal se han empleado varios parámetros espectrales y no lineales [11], que permiten caracterizar desde diferentes perspectivas las alteraciones asociadas a la enfermedad.

2. Materiales

3.1. Sujetos

La base de datos empleada en este estudio está compuesta por: 45 sujetos de control; 23 pacientes con DCL por EA estable tras un seguimiento mínimo de dos años (DCL-EA1); 19 pacientes con DCL por EA que han progresado a demencia por EA (DCL-EA2); 50 pacientes con demencia leve por EA (D-EA1); y 33 pacientes con demencia moderada por EA (D-EA2). El criterio de progresión de DCL a demencia se estableció durante el seguimiento clínico de los pacientes. No obstante, los registros EEG analizados fueron realizados en el momento del diagnóstico de DCL o demencia. Se emplearon los criterios del *National Institute of Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) para el diagnóstico de DCL o demencia por EA [12]. Los controles eran personas de edad avanzada, cognitivamente sanas y sin una historia clínica con enfermedades neurológicas o psiquiátricas. Para evaluar la fase de la enfermedad en cada paciente en términos de las alteraciones funcionales, cognitivas y de memoria, se utilizaron, respectivamente, el test Mini-Mental State Examination (MMSE), la escala Bayer Activities of Daily Living (B-ADL), y el test de alteración de memoria (T@M) [10]. Asimismo, la reserva cognitiva de cada sujeto se cuantificó mediante el cuestionario de reserva cognitiva (CRC) [13]. Los sujetos se dividieron en dos grupos de acuerdo a su puntuación en el test CRC: RC baja (puntuación de 0 a 9) y RC alta (puntuación de 10 a 25) [10]. La tabla 1 resume las características sociodemográficas y clínicas de los sujetos. No se obtuvieron diferencias significativas entre grupos en el sexo (p-valor > 0.05, test Chi-cuadrado), pero sí en el nivel de educación (*p*-valor < 0.05, test Chi-cuadrado).

Los participantes o cuidadores dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario "Río Hortega" (HURH) de Valladolid aprobó el estudio de acuerdo con el Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

3.2. Registros electroencefalográficos

Las señales EEG se registraron mediante un sistema de 19 canales (XLTEK[®], Natus Medical), disponible en el Departamento de Neurofisiología Clínica del HURH. Los electrodos se colocaron siguiendo el sistema internacional 10-20: Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1 y O2. La frecuencia de muestreo fue de 200 Hz. Se registraron 5 minutos de actividad en reposo mientras los sujetos estaban despiertos, relajados y con los ojos cerrados. Para prevenir la somnolencia, se monitorizaron los registros en tiempo real. A continuación, las señales se preprocesaron siguiendo los siguientes pasos [11]: (i) análisis de componentes independientes (ICA) para eliminar ruido de la señal; (ii) filtrado a 50 Hz para la eliminar la componente continua y en la banda [1 70] Hz; y (iii) selección de épocas de 5 s libres de ruido mediante inspección visual.

3. Métodos

Los parámetros espectrales y no lineales se calcularon a partir de la activación temporal de las fuentes cerebrales, estimadas mediante las señales EEG. A continuación, se exponen las características del procesado llevado a cabo.

3.1. sLORETA

Para estimar la activación temporal de las fuentes cerebrales que originaron las señales EEG, se empleó el standardized Low Resolution método Brain Electromagnetic Tomography (sLORETA). Este método de localización de generadores neuronales se basa en un modelo de fuentes linealmente distribuidas [14], que restringe el número de soluciones asumiendo que la actividad de los generadores neuronales vecinos está correlada; es decir, trata de maximizar su sincronización de potencia [14]. Además, sLORETA aplica ciertas restricciones fisiológicas sobre las fuentes estimadas para reducir los errores producidos [14]. En este trabajo sLORETA se ha utilizado para estimar 6239 fuentes, lo que aporta una resolución espacial de 5 mm³ [14].

3.2. Parámetros espectrales y no lineales

A partir de las series temporales obtenidas a nivel de fuente, se han calculado varios parámetros espectrales y no lineales [11]. Concretamente, se obtuvo un valor de estos parámetros por época y fuente para, posteriormente, promediar hasta lograr un único valor por sujeto.

1) Frecuencia mediana (MF). La MF es la frecuencia para la que se acumula el 50 % de la potencia de la densidad espectral de potencia (DEP). Resume en un solo valor la distribución global del contenido espectral de la DEP, por lo que resulta útil para cuantificar la progresiva lentificación de la actividad neuronal en la EA [11].

2) Frecuencia alfa individual (IAF). Esta es la frecuencia a la que se observa la actividad alfa dominante, que aparece en los humanos adultos con los ojos cerrados. Se ha estimado como el máximo de la DEP en la banda alfa extendida (4–15 Hz) [11]. La IAF permite cuantificar la pérdida de osciladores neuronales en la banda alfa, que típicamente se observa en la demencia por EA [11].

3) Complejidad de Lempel-Ziv (LZC). Este es un parámetro que estima la complejidad de una serie temporal, asignando valores mayores a las señales más complejas [11]. El umbral que emplea la LZC, T_d , se calculó como la mediana de la amplitud en cada fuente debido a la robustez que presenta esta frente a los valores atípicos [11]. La LZC ha resultado útil para observar una pérdida de complejidad en la actividad neuronal conforme avanza la demencia por EA [11].

Datos	Controles	DCL-EA1	DCL-FA2	D-EA1	D-FA2
Sujetos (H:M)	45 (14:31)	23 (10:13)	19 (5:14)	50 (25:25)	32 (9:23)
Edad (años)	75.6 [73.9 78.6]	78.2 [68.5 79.8]	77.2 [72.9 79.8]	80.6 [76 83.4]	82.5 [77.7 84.2]
Formación (A:B)	17:28	17:6	14:5	32:18	27:5
MMSE	29 [28 30]	27 [26 28]	27 [26 28]	23 [21 24.8]	16 [15 18]
Bayer-ADL	1.12 [1 1.3]	2.52 [1.9 2.9]	3.79 [3 4.4]	5.68 [4.6 6.4]	6.9 [4.9 7.7]
T@M	45 [42 48]	35 [31 36.8]	30 [24.5 33]	23.5 [21 27]	16 [10.5 18]
CRC	11 [7 13]	6 [5 10.8]	6 [5 7.8]	6 [5 12]	4 [2 7]

Tabla 1. Datos sociodemográficos y clínicos de la base de datos empleada. Los valores se expresan como: mediana [rango intercuartil]. DCL-EA1: pacientes con DCL estables; DCL-EA2: pacientes con DCL que han progresado; D-EA1: pacientes con demencia leve por EA; D-EA2: pacientes con demencia moderada por EA. H: hombre; M: mujer; A: educación primaria o inferior; B: educación secundaria o superior; MMSE: Mini-Mental State Examination (rango: [0 30]); Bayer-ADL: Bayer Activities of Daily Living (rango: [0 10]); T@M: Test de Alteración de Memoria (rango: [0 50]); CRC: Cuestionario de Reserva Cognitiva (rango [0 25]).

3.3. Análisis estadístico

En primer lugar, se realizó un análisis exploratorio para evaluar las distribuciones de los parámetros espectrales y no lineales, mediante los tests de Lilliefors y de Bartlett. Los datos no cumplían las hipótesis de normalidad y homocedasticidad, por lo que se aplicaron tests no paramétricos para evaluar las diferencias estadísticas.

Para evaluar la variación de las diferencias estadísticas entre grupos, se emplearon tests de Kruskal-Wallis. Posteriormente, para estudiar las diferencias entre pares de grupos se utilizó el test U de Mann-Whitney. Finalmente, se realizó un análisis de correlaciones parciales de Pearson, corregidas según el nivel de educación, entre los parámetros espectrales y no lineales y las puntuaciones de los tests MMSE, B-ADL y T@M.

4. Resultados y discusión

En la Figura 1 se muestra la distribución de la MF, la IAF y la LZC para los diferentes grupos de nuestro estudio. La Figura 2 muestra diagramas de dispersión entre estos parámetros neurofisiológicos y los tests clínicos.

En la Figura 1 se aprecia que la IAF disminuye progresivamente conforme avanza la demencia (Kruskal-Wallis, $p = 2.43 \times 10^{-6}$). Dicho patrón no aparece tan claramente para la MF y la LZC (Kruskal-Wallis, $p = 2.2 \times 10^{-3}$ y $p = 3.7 \times 10^{-2}$, respectivamente). Esta evolución es similar a lo indicado en estudios previos, en los que se ha demostrado una progresiva lentificación y pérdida de complejidad asociada a la EA [15].

La Figura 2 muestra los diagramas de dispersión para los



Figura 1. Diagramas de distribución de la MF, IAF y LZC para cada grupo.

parámetros de EEG estudiados. En ellos se han separado cada grupo patológico en función de su RC (alta o baja). Se puede apreciar como la evolución de la MF y la LZC presenta una dependencia con la RC. Asimismo, la MF y la LZC para los sujetos con RC alta se mantiene aproximadamente estable durante el avance de la EA. Por su parte, los sujetos con RC baja presentan una reducción



Figura 2. Diagramas de dispersión entre los parámetros neurofisiológicos (MF, IAF y LZC) y test cognitivos (MMSE, BADL y T@M). La fila inferior muestra los diagramas de distribución de los distintos tests clínicos para cada grupo. La línea continua es una regresión lineal de los datos para los sujetos con RC baja, mientras que la línea punteada es la regresión para los sujetos con RC alta.

progresiva de dichos parámetros. Esto implica que la RC introduce un sesgo en los parámetros neurofisiológicos, cuya evolución depende de ésta. Este resultado está alineado con los estudios realizados por Stern et ál., en los que se analizó la RC y su influencia en la EA [4]-[6]. Concretamente, Stern et ál. plantean la hipótesis de que los sujetos con mayor reserva cognitiva deberían mostrar mayor resiliencia a los déficits que provoca la demencia, pero que tras su manifestación clínica, el deterioro sería más rápido [4]-[6]. Apoyando esta idea, en un estudio previo se encontraron tendencias que apuntaban a que la RC también podría tener una influencia en la evolución de los parámetros neurofisiológicos durante la EA [10]. Sin embargo, como también se puede ver en la Figura 2, la evolución de la IAF es similar para los grupos con RC alta y baja. Esto quiere decir que la actividad alfa dominante es independiente de la RC, si bien la distribución del resto del espectro no lo es.

Para evaluar el grado en el que este sesgo afecta a los análisis se analizaron de nuevo las diferencias entre las distribuciones de los parámetros neurofisiológicos, considerando únicamente los sujetos con RC baja, ya que mostraban una mayor sensibilidad a los déficits funcionales, cognitivos y de memoria asociados a la EA. El nivel de significación al comparar entre los tres grupos aumentó cerca de un orden de magnitud para la MF y la LZC (Kruskal-Wallis, $p = 1.8 \times 10^{-4}$ y $p = 2.5 \times 10^{-3}$, respectivamente). Por su parte, la IAF mantiene un *p*-valor similar, reduciéndose levemente ($p = 1 \times 10^{-6}$). Este resultado apoya la idea de que la RC se debe tener en cuenta al analizar ciertos parámetros neurofisiológicos, pues introduce un sesgo importante que puede camuflar patrones neuronales diferenciales entre los grupos considerados.

Existen algunas limitaciones en el presente estudio que deben ser mencionadas. En primer lugar, el tamaño de la base de datos es limitado. Por ello, se está trabajando en aumentar la muestra, tratando de incluir nuevos grupos patológicos, como podrían ser personas con quejas subjetivas de memoria. Otra limitación es el reducido número de parámetros estudiados. Sería interesante realizar un análisis de conectividad y de red para caracterizar de manera más amplia la influencia que la RC ejerce sobre la actividad neural.

5. Conclusiones

Los resultados muestran que la RC influye en la evolución de ciertos parámetros neurofisiológicos durante la EA. Si bien es necesario seguir investigando, se puede concluir que la RC debería ser tratada como un factor de confusión al analizar señales EEG, pues puede introducir un sesgo importante en los resultados obtenidos.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto PGC2018-098214-A-I00 del 'Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades' y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), y 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 FEDER. V. Rodríguez González es beneficiario de una ayuda PIF-UVa de la Universidad de Valladolid.

Referencias

- [1] J. L. Cummings, et al., *La neuropsiquiatría de la enfermedad de Alzheimer y demencias relacionadas*. Atlas Medical Publishing, 2004.
- [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.* p. 84, 2015.
- [3] B. C. Riedel, et al., "Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease," J. Steroid Biochem. Mol. Biol., vol. 160, no. 1, pp. 134–147, 2016.
- [4] Y. Stern, "Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease," *Lancet Neurol.*, vol. 11, no. 1, pp. 1006–1011, 2012.
- [5] Y. Stern, "Cognitive reserve," *Neuropsychologia*, vol. 47, no. 10, pp. 2015–2028, 2009.
- [6] Y. Stern *et al.*, "Whitepaper: Defining and investigating cognitive reserve, brain reserve, and brain maintenance," *Alzheimer's Dement.*, vol. In Press, pp. 1–7, 2018.
- [7] M. Ewers, et al., "Cognitive reserve associated with FDG-PET in preclinical Alzheimer disease," *Neurology*, vol. 80, no. 13, pp. 1194–1201, 2013.
- [8] S. Morbelli *et al.*, "Metabolic Networks Underlying Cognitive Reserve in Prodromal Alzheimer Disease: A European Alzheimer Disease Consortium Project," *J. Nucl. Med.*, vol. 54, no. 6, pp. 894–902, 2013.
- [9] M. Bozzali *et al.*, "The Impact of Cognitive Reserve on Brain Functional Connectivity in Alzheimer's Disease," *J. Alzheimer's Dis.*, vol. 44, no. 1, pp. 243– 250, 2015.
- [10] V. Rodriguez-Gonzalez, et al., "Assessing the influence of cognitive reserve in EEG signals through Alzheimer's Disease progression," in Actas del XXXIV Simposium Nacional de la Unión Científica Internacional de Radio, 2019, pp. 1–4.
- [11] S. J. Ruiz-Gómez *et al.*, "Automated Multiclass Classification of Spontaneous EEG Activity in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment," *Entropy*, vol. 20, no. 35, pp. 1–15, 2018.
- [12] J. R. Clifford *et al.*, "NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease," *Alzheimer's Dement.*, vol. 14, no. 4, pp. 535–562, 2018.
- [13] L. Rami, et al., "Screening for amnestic mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease with M@T (Memory Alteration Test) in the primary care population," Int. J. Geriatr. Psychiatry, vol. 22, no. 4, pp. 294–304, 2007.
- [14] R. D. Pascual-Marqui, "Standardized low-resolution brain electromagnetic tomography (sLORETA): technical details," *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, vol. 24, no. 4, pp. 5–12, 2002.
- 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, pp. 1–10, 2011.

Mimicking Soft Living Tissues for 3D Printed Surgical Planning Prototypes Using Different Materials

A. Tejo-Otero¹, F. Fenollosa-Artés¹, I. Buj-Corral²

¹ Centre CIM, Universitat Politècnica de Catalunya (CIM UPC), Barcelona, Spain, {atejo,ffenollosa}@cimupc.org ² TECNOFAB, Department of Mechanical Engineering, UPC, Barcelona, Spain, irene.buj@upc.edu

Abstract

Additive Manufacturing (AM) has different applications in the medical sector: implants, tissue engineering or 3D printed surgical planning prototypes. The latter field mentioned has undergone an enormous transformation during the last years. The first prototypes were manufactured in FFF (Fused Filament Fabrication) or SLS (Selective Laser Sintering), and hence, the materials used were rigid and hard. However, recent advances in this field came hand in hand with the mimicking of the soft living tissues using different materials: hydrogels and silicones. In this study, a mimicking of six different organs is achieved using different materials by applying DMA (Dynamic Mechanical Analysis) and Shore hardness. The mimicking results obtained are different for DMA and Shore hardness. Finally, to illustrate these advances, this research focuses in the liver case for preoperative surgical planning.

1. Introduction

Day-by-day population is aging, and consequently, the number of organ operations is steadily increasing. This leads to both a rise of costs and workload of surgeons. In addition, it is important to highlight that surgeons not only have a short time to fulfil the operation, but also need to carry out complex technical tasks. Consequently, it could be vital to improve surgical planning by using realistic prototypes for two reasons: (1) operation time would be considerably reduced, around a 7%; (2) the risk could be reduced. Different studies demonstrated that surgeons who have trained with surgical planning prototypes had better skills than those who did not have the same opportunity [1]. However, up to date the use of realistic prototypes for surgical planning is limited to exceptional cases, and doctors do not have received enough training and methods to face this problem [2].

During the last years, most of the 3D physical models were completely manufactured in FFF [3, 4] or SLS [3]. The materials used by these 3D printing techniques do not mimic soft living tissues since the materials are hard and rigid. Hence, it can only be used for visualization by the surgeons instead of using it as a way to rehearse the operation within the surgical planning process. However, Jetted Photopolymer technology allows the 3D printing of prototypes with different textures [3], so soft materials are used, although they are stiffer than soft living tissues and the cost is much higher than FFF and SLS.

Additionally, the moulding technique was applied since it is the only way for manufacturing 3D physical models. First, a mould is manufactured using FFF, and then, a hydrogel or silicone is casted. For instance, in Muguruza et al. [5] soft and transparent silicon rubber Smooth-On EcoFlex 00-30 was casted into the mould, thus obtaining a prototype of a liver, which had encasing vases and tumour nodules. The mould was manufactured in a FFF desktop 3D printer (a Sigma model from BCN3D Technologies) using PLA filament. Additionally, in Forte et al. [6] this technique was also used for a brain phantom.

As a conclusion, there is a need of new technologies and materials to produce prototypes mimicking soft living tissues, at a cost that would not stop hospitals to use it. The fact is that a lot of research has been carried out. For example, in Tan et al. [7] different concentrations of PVA (polyvinyl alcohol) and PHY (Phytagel) were tried to mimic three different living tissues: brain, lung and liver. It was concluded that the best compositions for each organ were the following: (1) for the brain, 2.5%wt PVA + 1.2%wt PHY; (2) for the lung, 11%wt PVA; and (3) for the liver, 14%wt PVA + 2%wt PHY. The latter organ mentioned was also studied in Jong et al. [8]. It was concluded that the 4%wt PVA with two freeze-thaw (FT) cycles could replicate the liver tissue.

Therefore, the aim of this study is to mimic several soft living tissues using different materials for preoperative surgical planning. First of all, the characterisation of both organs and materials is carried out using DMA and Shore hardness. Then, the discussion is focused in the liver preoperative surgical planning.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of Biological Tissues

Six different lamb organs were procured from a local supplier within 24 hours post-mortem. The sample (n=6 per organ) dimensions are specified in Table 1.

Organ	Diameter (mm)	Height (mm)
Liver	16.22±0.61	7.04±1.81
Spleen	16.12±1.15	5.10±0.94
Kidney	16.59±1.06	6.76±1.66
Brain	16.20 ± 1.10	6.70 ± 1.08
Heart	16.58±0.39	6.99±1.57
Pancreas	16.40 ± 0.89	7.04±1.55

 Table 1. Dimensions of the organ samples were measured using a calliper.

2.2. Preparation of Material Samples

The sample dimensions (n=6 per material) can be seen in Table 2.

Materials	Diameter (mm)	Height (mm)
1%wt Agarose	17.68 ± 0.80	7.22±1.49
2%wt Agarose	17.15±0.63	6.51±1.06
Silicone (Dragon Skin with Slacker)	15.88±0.07	8.10±0.09
4%wt methacrylate gelatine (GelMA)	15.15±0.22	7.68±0.68
6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT	14.78±0.46	5.35±0.54
6%wt PVA/ 1%wt PHY – 2FT	16.83±0.82	7.21±0.77

 Table 2. Dimensions of the material samples were measured using a calliper.

In terms of agarose, 1%wt and 2%wt agarose gels were produced by mixing deionized water and agarose powder supplied by Químics Dalmau, Spain. The correspondent agarose powder amounts were added to the water and magnetically stirred and heated at 90°C until it is fully mixed.

The platinum cure silicone rubber (Dragon Skin) was mixed with Slacker to create a softer silicone gel. Dragon Skin has two constituents (parts "A" and "B") that were mixed together in 1:1 weight ratio and cured for 45 minutes at room temperature (23°C).

Regarding the %4wt GelMA, gelatine was supplied by Sigma Aldrich, USA. Methacrylate gelatine was synthesized as previously described in Nichol et al. [9]. The 4%wt gelatine was added to a PBS (Phosphate Buffered Saline) solution at 60°C and stirred until it was fully dissolved. Then, anhydrite methacrylate (5%wt) was added with a syringe at a constant velocity of 0.5mL/min, maintaining the solution in magnetic agitation for 1 hour at 50°C. Then, pre-heated PBS was added at 40°C at a volume ratio of 1:5, and left in a dialysis tube at 40°C for 1 week. After this, the solution was lyophilized for one week so as to generate white porous foam and stored at -80 °C until further use.

Finally, the composite hydrogel (CH) was produced by mixing PVA (molecular weight 85-124 Da) and PHY that were supplied by Sigma Aldrich, USA. The solutions were prepared separately with the correspondent amount of powder (6%wt PVA and 1%wt PHY) and the rest was deionized water. They were magnetically stirred and heated at 93°C for 1 hour. Then, when it is fully mixed, the solutions are allowed to cool down. After, the separate solutions were combined at 1:1 weight ratio and stirred at 70°C for 1h. Finally, the samples are physically cross-linked by undergoing one or two FT cycles (24 hours): -18°C for 16 hours, and then, at room temperature for 8 hours.

2.3. Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

DMA applies an oscillating force to a sample and analyses the response of the material to that force. It calculates not only the complex elastic modulus (E^*), a storage elastic modulus (E^*) and loss elastic modulus (E^*), but also stiffness and stress-strain curves. In addition, it is important to highlight that the complex elastic modulus is obtained by relating the storage elastic modulus with the loss elastic modulus (see Equation 1):

Both organs and materials were characterised in compression using a DMA Q800 (TA Instruments) at 37°C, 1Hz and a pre-load force of 0.001N (Figure 1).



Figure 1. Scheme of the DMA.

2.4. Shore Hardness

Regarding Shore hardness, ASTM D2240-Durometer Hardness method was used [10]. For that, Shore Durometer Type 00 and 000, supplied by Baxlo, Instrumentos de Medida y Precisión, S.L., Spain, were used for measuring Shore hardness of the biological tissues and material samples. Shore 00 is for soft materials, while Shore 000 for even softer materials. Each scale results in values between 0 and 100, being the highest values indicating a harder material.

3. Results

3.1. Dynamic Mechanical Analysis (DMA)

Regarding DMA, some similarities can be found between the organs and materials. See Figure 2. However, there are two materials, which are too hard for mimicking living tissues, and do not appear in Figure 2B: soft silicone (Dragon Skin with Slacker) and 2%wt Agarose. Regarding the rest of the materials and organs, some materials are able to mimic few organs due to the matching in E*. See Figure 2A & 2B.

For instance, 4%wt GelMA seems to offer the same viscoelastic behavior as the heart. Additionally, in terms of the 1%wt Agarose and 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 2FT, they could mimic the pancreas. Finally, 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT is the only material able to mimic the other four living tissues: brain, spleen, kidney and liver. It is also worth mentioning that a less amount of PVA or PHY could give a closer matching with the aforementioned organs.

By focusing on the liver, 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT is the best material for mimicking the liver tissues in storage and loss elastic modulus and stiffness as well as Young's Modulus. See Figure 2C-F. For example, the Young's Modulus obtained for the liver and 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT is: 1.4 kPa and 3.6 kPa, respectively.



Figure 2. Characterization of the different organs and materials. (A) Complex elastic modulus of different living tissues. (B) Complex elastic modulus of different materials. (C-F) Mimicking liver using 6%wt PVA/1%wt PHY – 1FT: (C) Comparison of complex elastic modulus, (D) Comparison of storage and loss elastic modulus, (E) Comparison of stiffness, (F) Comparison of stress-strain.

3.2. Shore Hardness

The Shore hardness values of organs obtained are an average of several measurements taken at different locations of their surface. See Table 3. On the other hand, the values of the materials can be seen in Table 4. The mimicking obtained in the above-mentioned techniques is different. For example, the best material for mimicking the hardness of the liver is 1%wt Agarose, while in DMA is 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT.

Organs	Shore 00	Shore 000
Liver	18	47
Spleen	7	40
Kidney	32	58
Brain	5	38
Heart	43	68
Pancreas	13	42

Table 3.	Shore	hardness	values	of	living	tissues.
----------	-------	----------	--------	----	--------	----------

Materials	Shore 00	Shore 000
1%wt Agarose	17	46
2%wt Agarose	38	63
Dragon Skin with Slacker	4	37
4%wt GelMA	32	58
6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT	(too soft, out of range)	10
6%wt PVA/ 1%wt PHY – 2FT	(too soft, out of range)	20

Table 4. Shore hardness values of materials.

4. Discussion

Some materials can mimic different living tissues by focusing on values like complex elastic modulus (E*) and Shore hardness. See Table 5. The mimicking between an organ and a material regarding either DMA or Shore hardness is shown with the symbol $\sqrt{}$.

	Ι	liver	Sj	oleen	K	idney	В	Brain	Η	eart	Par	icreas
	E*	Shore	E*	Shore	E*	Shore	E*	Shore	E*	Shore	E*	Shore
1%wt Agarose												
2%wt Agarose												
Dragon Skin with Slacker				\checkmark								
4%wt GelMA									\checkmark			
6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT							\checkmark					
6%wt PVA/ 1%wt PHY – 2FT											\checkmark	

Table 5. Mimicking of the soft living tissues using different materials in terms of E^* and Shore.

For instance, 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 1FT mimics the brain tissue [7], or with less amount of these materials [11]. Softer tissues such as spleen, liver [8] and kidney [12] could be mimicked by reducing the amount of PVA or PHY (Figure 3) or using different materials. In addition, both 6%wt PVA/ 1%wt PHY – 2FT and 1%wt agarose mimic the pancreas. Besides, 4%wt GelMA could mimic the heart.

By focusing on the liver, its Young's Modulus value is around 1.4 kPa. This value is similar to the values obtained in Colombo et al. [13], which are between 0.6 and 2 kPa. Regarding the Shore hardness of the liver, the value obtained in this study (18 Shore 00) is in concordance with Yoon et al. [14], which obtained a 15.06 ± 2.64 Shore 00 in a healthy liver.

5. Conclusion

The importance of this study is to progress in the path of identifying materials to mimic organs. These findings will be extremely helpful for 3D printed surgical planning prototypes for surgeons in the future. Additive Manufacturing research field is just blooming.

Acknowledgements

The research undertaken in this paper has been of QuirofAM project (Exp. COMRDI16-1-0011) funded by ACCIÓ from the Catalan government and ERDF from EU. In addition, we would like to thanks to Dr. Salvador Borrós Gómez of IQS (Institut Químic de Sarriá) for letting us the DMA Q800 of their laboratory and to Dr. Miguel Ángel Mateos Timoneda of IBEC (Institute for Bioengineering of Catalonia) for the synthesis of GelMA.

References

- Sekhar, A., Sun, M. R., & Siewert, B. (2014). A tissue phantom model for training residents in ultrasound-guided liver biopsy. *Academic radiology*, *21*(7), 902-908.
- [2] Chikwe, J., de Souza, A. C., & Pepper, J. R. (2004). No time to train the surgeons.
- [3] Krauel, L., Fenollosa, F., Riaza, L., Pérez, M., Tarrado, X., Morales, A.,... & Mora, J. (2016). Use of 3D prototypes for complex surgical oncologic cases. *World journal of surgery*, 40(4), 889-894.

- [4] Starosolski, Z. A., Kan, J. H., Rosenfeld, S. D., Krishnamurthy, R., & Annapragada, A. (2014). Application of 3-D printing (rapid prototyping) for creating physical models of pediatric orthopedic disorders. *Pediatric radiology*, 44(2), 216-221.
- [5] Muguruza Blanco, A., Krauel, L., & Fenollosa Artés, F. (2019). Development of a patients-specific 3D-printed preoperative planning and training tool, with functionalized internal surfaces, for complex oncologic cases. *Rapid Prototyping Journal*, 25(2), 363-377.
- [6] Forte, A. E., Galvan, S., Manieri, F., y Baena, F. R., & Dini, D. (2016). A composite hydrogel for brain tissue phantoms. *Materials & Design*, 112, 227-238.
- [7] Tan, Z., Dini, D., y Baena, F. R., & Forte, A. E. (2018). Composite hydrogel: A high fidelity soft tissue mimic for surgery. *Materials & Design*, 160, 886-894.
- [8] de Jong, T. L., Pluymen, L. H., van Gerwen, D. J., Kleinrensink, G. J., Dankelman, J., & van den Dobbelsteen, J. J. (2017). PVA matches human liver in needle-tissue interaction. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 69, 223-228.
- [9] Nichol, J. W., Koshy, S. T., Bae, H., Hwang, C. M., Yamanlar, S., & Khademhosseini, A. (2010). Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels. *Biomaterials*, 31(21), 5536-5544.
- [10] ASTM D2240-15e1. (2015). Standard Test Method for Rubber Property–Durometer Hardness.
- [11] Leibinger, A., Forte, A. E., Tan, Z., Oldfield, M. J., Beyrau, F., Dini, D., & y Baena, F. R. (2016). Soft tissue phantoms for realistic needle insertion: a comparative study. *Annals* of biomedical engineering, 44(8), 2442-2452.
- [12] Adams, F., Qiu, T., Mark, A., Fritz, B., Kramer, L., Schlager, D. ... & Fischer, P. (2017). Soft 3D-printed phantom of the human kidney with collecting system. *Annals of biomedical engineering*, 45(4), 963-972.
- [13] Colombo, S., Belloli, L., Zaccanelli, M., Badia, E., Jamoletti, C., Buonocore, M., & Del Poggio, P. (2011). Normal liver stiffness and its determinants in healthy blood donors. *Digestive and Liver Disease*, 43(3), 231-236.
- [14] Yoon, Y. C., Lee, J. S., Park, S. U., Kwon, J. H., Hong, T. H., & Kim, D. G. (2017). Quantitative assessment of liver fibrosis using shore durometer. *Annals of surgical treatment and research*, 93(6), 300-304.

Modelado y simulación de mutaciones causantes de la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica

F. Escobar Ropero¹, M.A. Arnau Vives², E. Zorio Grima², J. Saiz Rodríguez¹, L. Romero Pérez¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {lromero,jsaiz}@ci2b.up.es

² Servicio de Cardiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España, unidad.ms.cv@gmail.com

Resumen

Las arritmias cardiacas son una de las causas de mortalidad y morbilidad más importantes en los países desarrollados. Las mutaciones genéticas producen alteraciones en los canales y proteínas de las células que pueden llevar a su malfuncionamiento y a la generación de actividad arritmogénicas.

En este trabajo se pretende elaborar modelos de dos mutaciones relacionadas con la taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica: la R4497C del canal de liberación de calcio del retículo sarcoplasmático (RyR2) y la mutación CASQ2(-/-) del tampón de calcio calsecuestrina, y estudiar sus efectos a nivel celular. Estos efectos se estudiarán en una población de modelos de potencial de acción humano ventricular para tener en cuenta la variabilidad electrofisiológica.

La mutación $RyR2^{R4497C}$ se ha modelizando multiplicando por 10 la velocidad de transición del estado cerrado al abierto del RyR2 y la CASQ2(-/-) se ha adaptado reduciendo a la mitad la concentración de calcio y su derivada en dicho tampón. La población de modelos de potencial de acción generada se compone de 628 modelos. Las simulaciones realizadas con las tres poblaciones, esto es, en control, en presencia de la mutación $RyR2^{R4497C}$ y de la CASQ2(-/-) muestran que, mientras no existe generación de actividad eléctrica espontánea en control, la mayoría de los modelos con mutación la desarrollan. Además, mediante un estudio de correlación se ha observado que la bomba sodio-potasio y la componente rápida de la corriente diferida de potasio son las más relevantes en los biomarcadores estudiados.

1. Motivación

En los últimos años se ha obtenido un mayor conocimiento sobre los genes y sus alteraciones. Las mutaciones cardiacas pueden afectar a los canales iónicos y proteínas que componen los cardiomiocitos. Esto puede producir alteraciones que desencadenen la aparición de arritmias. Las arritmias son la fisiopatología cardiaca más importante y una de las principales causas de mortalidad y morbilidad, por lo que su estudio es de especial interés para los sistemas de salud.

La taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica es una arritmia cardiaca de origen genético que puede llegar a producir episodios de muerte súbita bajo condiciones de estrés o esfuerzo. Esta enfermedad se produce por mutaciones en los genes que codifican el canal de liberación de calcio del retículo sarcoplasmático (RyR2) o en los genes que regulan la proteína calsecuestrina, que actúa como tampón de calcio en el retículo sarcoplasmático. Estas alteraciones afectan a la dinámica del calcio intracelular lo que produce los efectos arritmogénicos [1].

El objetivo principal de este trabajo es elaborar un modelo computacional de cardiomiocito ventricular humano de la mutación R4497C del canal RyR2 y adaptar un modelo previo de la mutación CASQ2(-/-) de la calsecuestrina para incluirla en un modelo de cardiomiocito ventricular humano. Dado que en los seres vivos existe una variabilidad natural en las corrientes de membrana, se han generado poblaciones de modelos en control y con cada una de las mutaciones. Para cada población ha estudiado la aparición de actividad eléctrica espontánea y la importancia de las principales corrientes de membrana sobre los biomarcadores.

2. Material y métodos

2.1 Modelo

Para este trabajo se ha utilizado el modelo de cardiomiocito ventricular humano desarrollado por Grandi y colaboradores [2] con las modificaciones realizadas por Moreno y colaboradores [3]. Este modelo contempla las principales corrientes de membrana y refleja con detalle la dinámica de calcio celular.

2.2 Ajuste mutación R4497C

Los datos experimentales para el ajuste de la mutación se han obtenido del estudio de Fernández-Velasco y colaboradores [4]. En dicho trabajo se observa que la mutación produce actividad eléctrica espontánea a altas frecuencias y bajo la aplicación de beta estimulación, que simula las condiciones de estrés. En los cardiomiocitos que no expresaban la mutación no se producía ningún tipo de actividad arritmogénica.

El modelo de cardiomiocito empleado consta de un modelo de Markov de cuatro estados del canal RyR2, tal y como se observa en la figura 1. Experimentalmente se ha observado un aumento de la sensibilidad del canal RyR2, lo que se puede simular aumentando la velocidad de transición del estado cerrado al estado abierto [5], denominado K_0 Ca en nuestro modelo.



Figura 1: Esquema del modelo de Markov del canal RyR2 [6].

De acuerdo al estudio de referencia [4], la mutación produce cambios en tres biomarcadores de calcio intracelular: pico máximo, tiempo de pico y constante de recuperación. El tiempo de pico se calcula como el tiempo que transcurre entre el 10% de la amplitud máxima del transitorio de calcio y el 90% de dicha amplitud. La contante de recuperación se calcula mediante un ajuste exponencial utilizando Matlab (The MathWorks Inc., Natick (MA), EEUU). Se disponen datos experimentales a 2 y 3Hz con y sin la aplicación de beta estimulación, por lo se han considerado estas situaciones para el estudio.

Para aumentar la velocidad de transición y reflejar el aumento de sensibilidad se ha introducido un factor multiplicativo del parámetro K_0Ca . Para obtener el valor del factor multiplicativo que mejor ajusta los biomarcadores obtenidos experimentalmente se ha utilizado una herramienta de ajuste automático de parámetros. El valor mínimo de dicho factor debe ser de 10 para garantizar que a 3Hz con beta estimulación se produce actividad espontánea, tal y como hemos observado en simulaciones preliminares.

Se han considerado 4 situaciones distintas: 2 y 3Hz, con y sin beta estimulación. El protocolo de simulación utilizado en cada caso consiste en 5 minutos estimulando en una situación concreta, introducir el modelo de la mutación, continuar estimulando durante 30 segundos y por último, dejar el modelo sin estimular durante 10 segundos más para observar la producción de actividad eléctrica espontánea.

2.3 Ajuste mutación CASQ2(-/-)

Para el ajuste de esta mutación se ha adaptado un modelo previo desarrollado por Yang y colaboradores [7] donde se fijaba a 0 la concentración inicial y la derivada de la calsecuestrina. Esta mutación provoca la aparición de pulsos espontáneos entre los pulsos estimulados y actividad espontánea al dejar de estimular a bajas frecuencias y en presencia de beta estimulación.

2.4 Población de modelos

Para la población de modelos se ha introducido una variación de $\pm 100\%$ en las principales corrientes de membrana, siguiendo los trabajos realizados por Britton y colaboradores [8,9]. La variación de parámetros se hace siguiendo una distribución uniforme.

El análisis de la población de modelos se basa en dos variables: la duración del potencial de acción al 90% (APD_{90}) y la aparición de actividad eléctrica espontánea. Esta última es una variable binaria codificada como 0 en caso de no producirse actividad espontánea y como 1 en caso de producirse. También se han calculado para cada modelo los biomarcadores del calcio utilizados en el ajuste de la mutación R4497C.

Se generan 1000 modelos en control de los cuales se obtienen 628 modelos válidos. La validación se realiza en base al APD₉₀, de manera que se consideran solo los modelos cuyo APD₉₀ se encuentra dentro del rango fisiológico experimental obtenido del trabajo realizado por O'Hara y colaboradores [10]. A continuación se presenta el rango experimental a 2 y 3Hz:

- 2Hz: 45.68-424.32 ms
- 3Hz: 24.68-403.32 ms

En los 628 modelos resultantes se introducen las dos mutaciones desarrolladas previamente.

2.5 Correlación y regresión

Para analizar la importancia de las diferentes corrientes modificadas en la población sobre los biomarcadores del calcio intracelular, el APD₉₀ y la generación de actividad espontánea, se ha realizado una correlación entre la modificación de las conductancias de las corrientes y las variables estudiadas [8, 9]. En el caso de la generación de actividad espontánea, al tratarse de una variable binaria, se ha elaborado una regresión logística. La conductancia que presenta mayor correlación o coeficiente de regresión es la que tiene más importancia.

3. Resultados

3.1 Ajuste mutación R4497C

Tras utilizar la herramienta de ajuste automático de parámetros, se obtiene un factor multiplicativo del parámetro K_0 Ca de 10 como modelo de la mutación.

El modelo de mutación ajusta correctamente los valores experimentales de la mutación de pico máximo de calcio intracelular y tiempo de pico del calcio intracelular tal y como puede observarse en la figura 3. La constante de recuperación simulada para la mutación difiere de la experimental, lo que puede deberse al hecho de no disponer de datos sobre cómo fue calculada en el trabajo de Fernández-Velasco y colaboradores [4].



Figura 2: Pico de calcio (arriba) y tiempo de pico del calcio intracelular (abajo) para la mutación. En gris experimental, en negro simulado, en línea continua sin beta estimulación y en línea discontinua con beta estimulación.

3.2 Ajuste mutación CASQ2(-/-)

Para el ajuste de la mutación de la calsecuestrina en primer lugar se fijan a 0 las ecuaciones de la concentración inicial y la derivada tal y como se realiza en el modelo de referencia [7]. Se observa que los efectos de neutralizar la calsecuestrina son excesivos para nuestro modelo de cardiomiocito.

Por este motivo se decide reducir solo en un 50% las ecuaciones de la calsecuestrina. Con esta reducción se consigue reproducir lo observado en la figura 2. Los resultados se presentan en la figura 3.



Figura 3: Resultados simulados a 1Hz con beta estimulación de la mutación CASQ2(-/-) para el potencial de membrana (arriba) y el calcio intracelular (abajo). Los puntos negros señalan los pulsos estimulados.

En la figura 4 se puede observar que se producen pulsos espontáneos entre los pulsos <u>est</u>imulados y al finalizar la estimulación se genera actividad espontánea. Esto reproduce los resultados obtenidos con el modelo de mutación de Yang y colaboradores [7] y por lo tanto se selecciona como modelo de la mutación CASQ2(-/-).

3.3 Población de modelos

Para la población de modelos tanto en control como en cada una de las mutaciones se han obtenido los histogramas de los APD_{90} y el número de modelos en los que se producía actividad espontánea, los resultados pueden verse en la figura 5 y tabla 1 respectivamente.



Figura 4: Histogramas de APD₉₀ para las poblaciones en control (A), con la mutación R4497C (B) y con la mutación CASQ2(-/-) (C). Las líneas rojas señalan los límites del rango fisiológico, la línea verde la media experimental y la morada la media simulada.

En la figura 5 se puede observar que en todos los casos la media simulada (morada) es similar a la media experimental (verde). Por otro lado, se ve que en las poblaciones de las mutaciones existen modelos cuyos APD_{90} salen del rango experimental de O'Hara y colaboradores [10]. La mayoría de los modelos que se salen de dicho rango lo hacen por una duración excesiva del potencial de acción. Finalmente puede observarse que la aplicación de beta estimulación no altera la distribución de los histogramas.

3.4 Correlación y regresión logística

Tras realizar la correlación y regresión logística se obtiene que la comba de sodio-potasio (I_{NaK}) y la componente rápida de la corriente diferida de potasio (I_{kr}) son las corrientes que más afectan a los biomarcadores estudiados. Este resultado es común para todas las poblaciones de modelos realizadas y es independiente de la frecuencia de estimulación y la aplicación de beta estimulación. En la figura 6 se muestra un ejemplo de las matrices normalizadas obtenidas para la correlación.



Figura 5: Matrices de correlación normalizadas para la población en control a 2Hz sin beta estimulación (arriba) y con beta estimulación (abajo). El color rojo representa sensibilidad positiva y el color azul sensibilidad negativa.

4. Discusión

La principal limitación del estudio es la escasez de datos experimentales en los que basarse para mejorar los modelos desarrollados. Sin embargo, los resultados de la correlación están de acuerdo con lo obtenido en estudios previos. El trabajo de Romero y colaboradores [11] refleja el papel clave de la comba sodio-potasio en el pico y la dinámica de calcio intracelular. Además, el trabajo de Britton y colaboradores [9] se centra en la importancia de esta bomba. Por otro lado, la relevancia de la componente rápida de la corriente diferida de potasio y sus efectos sobre el APD₉₀ aparecen reflejados en otro trabajo de Britton y colaboradores [8].

5. Conclusiones

Se ha propuesto un modelo de la mutación R4497C que reproduce los biomarcadores de calcio experimentales para la mutación y se ha adaptado el modelo de la mutación CASQ2(-/-) a nuestro modelo de cardiomiocito ventricular humano.

También se han generado poblaciones de modelos en control y en cada una de las mutaciones que se han

utilizado para evaluar la generación de actividad eléctrica espontánea en las poblaciones. Finalmente se ha realizado una correlación para ver la importancia de las corrientes en los biomarcadores estudiados, destacando bomba sodio-potasio y la componente rápida de la corriente diferida de potasio.

6. 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

7. Referencias

- Domingo, D. (2014). Rasgos no ventriculares, clínicos y funcionales de la mutación RyR22R420Q causante de taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica.
- [2] Grandi, E., Pasqualini, F., & Bers, D. (2010). A novel computational model of the human ventricular action potential and Ca transient. *Journal Of Molecular And Cellular Cardiology*, 48(1), 112-121. doi: 10.1016/j.yjmcc.2009.09.019
- [3] Moreno, J., Yang, P., Bankston, J., Grandi, E., Bers, D., Kass, R., & Clancy, C. (2013). Ranolazine for Congenital and Acquired Late I Na -Linked Arrhythmias. *Circulation Research*, 113(7). doi: 10.1161/circresaha.113.301971
- [4] Fernández-Velasco, M., Rueda, A., Rizzi, N., Benitah, J., Colombi, B., & Napolitano, C. et al. (2009). Increased Ca 2+ Sensitivity of the Ryanodine Receptor Mutant RyR2 R4496C Underlies Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia. *Circulation Research*, 104(2), 201-209. doi: 10.1161/circresaha.108.177493
- [5] Ramay, H., Liu, O., & Sobie, E. (2011). Recovery of cardiac calcium release is controlled by sarcoplasmic reticulum refilling and ryanodine receptor sensitivity. *Cardiovascular Research*, 91(4), 598-605. doi: 10.1093/cvr/cvr143
- [6] Stern, M. (1999). Local control models of cardiac excitationcontraction coupling. *The Rockefeller University Press*, 113, pp.469-489
- [7] Yang, P., Moreno, J., Miyake, C., Vaughn-Behrens, S., Jeng, M., & Grandi, E. et al. (2015). In silicoprediction of drug therapy in catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *The Journal Of Physiology*, 594(3), 567-593. doi: 10.1113/jp271282
- [8] Britton, O., Bueno-Orovio, A., Van Ammel, K., Lu, H., Towart, R., Gallacher, D., & Rodriguez, B. (2013). Experimentally calibrated population of models predicts and explains intersubject variability in cardiac cellular electrophysiology. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 110(23), E2098-E2105. doi: 10.1073/pnas.1304382110
- [9] Britton, O., Bueno-Orovio, A., Virág, L., Varró, A., & Rodriguez, B. (2017). The Electrogenic Na+/K+ Pump Is a Key Determinant of Repolarization Abnormality Susceptibility in Human Ventricular Cardiomyocytes: A Population-Based Simulation Study. *Frontiers In Physiology*, 8. doi: 10.3389/fphys.2017.00278
- [10] Thomas O'Hara, László Virág, András Varró, Yoram Rudy. Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation. *PLoS Comput Biol.* 2011 May; 7(5): e1002061. Published online 2011 May 26. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002061
- [11] Romero, L., Pueyo, E., Fink, M., & Rodríguez, B. (2009). Impact of ionic current variability on human ventricular cellular electrophysiology. *American Journal Of Physiology-Heart And Circulatory Physiology*, 297(4), H1436-H1445. doi: 10.1152/ajpheart.00263.2009

EVE: A liquid handling robot based on LEGO Mindstorms

<A>. Fosch Muntané1, <L>. Galera2, <J>. Garcia-Ojalvo3

Department of Experimental and Health Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain, ariein2.2@alumni.upf.edu
 Department of Experimental and Health Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain, galera.leticia@gmail.com
 Department of Experimental and Health Sciences, Pompeu Fabra University, Barcelona, Spain, jordi.g.ojalvo@upf.edu

Abstract

High throughput screening (HTS) has led to a revolution in research laboratories due to the possibility of performing millions of tests very quickly. The rise of HTS was accompanied by the appearance of the market of liquid handling robots (LHRs), which intend to automatize the handling of samples in HTS procedures. However, commercial LHRs are a noticeable investment for many small biology laboratories.

The objective of this project is to create, using LEGO Mindstorms, a low-cost LHR that is able to fill 96-well plates automatically. The robot, which we have named EVE, uses a single channel micropipette and avoids cross-contamination between wells by changing pipette tips during the plate-filling procedure.

EVE's design was created by combining computational design with the physical assembly of the different robot parts. Additionally, three 3D printed bases were created to sustain all the different required elements for the robot function.

Finally, EVE was programmed to perform routines like copying a 96-well plate or performing a dilution. The software also includes a menu to calibrate the robot and select the desired routine to perform.

1. Introduction

Since the beginnings of high-throughput screening (HTS) in the early 1900s [1], this methodology has driven continuous changes in laboratory processes and the technologies associated with them. These changes are mainly caused by the incorporation of robots that automatize some repetitive procedures, allowing the researchers to conduct even thousands of tests very quickly. Undoubtedly, this has supposed a revolution for the world of biological research, leading to the beginning of what the scientific community calls the high-throughput era [2, 3].

In biology wet labs, the incorporation of HTS techniques such as microfluidic devices, on-chip technologies or microplates has supposed a huge improvement in terms of time and efficacy. In fact, microplates, often called well plates, have replaced test tubes in a large number of procedures [4, 5]. The most used microplate in biology laboratories is the 96-well plate and will be the one in which this article will focus.

The 96-well plates offer an array of 12 rows by 8 columns with a maximum capacity of 360μ l, which makes them very valuable for HTS experiments. However, filling them

is a repetitive, time-consuming and prone-to-error task. To hasten the filling process and also minimize the error risk, scientists usually design their experiments for being filled with multichannel pipettes. Such pipettes can fill up to 8 wells simultaneously. Using multichannel pipettes forces the researcher to plan beforehand their experiments to have eight wells with the same medium, which limits the number of experiments that can be performed on each plate.

To optimize the filling procedure, laboratory equipment companies started commercializing Liquid Handling Robots (LHRs), which automatically fill the plates in a faster and more precise manner. However, commercial LHRs also entail their drawbacks, as they are often expensive and not very versatile. Therefore, building a cheaper yet reliable LHR can be an interesting solution for small laboratories who do not want to invest much money in buying a commercial one. In this project, we propose the design and implementation of a low-cost modular LHR based on LEGO Mindstorms.

LEGO Mindstorms is a line of products from LEGO that not only allows building robots but also controlling them easily with programmable motors and sensors [6].

Building a LHR with LEGO Mindstorms is not an utterly novel idea. In 2017 *Gerber et al* already described two designs for LHRs based on LEGO Mindstorms [7]. The main limitation of their systems is that they are based on a syringe, instead of using a laboratory micropipette, which can be a cause of cross-contamination between samples with different conditions or media.

In 2010 *Mike Barnkob* designed another LEGO-based LHR, published on *Open WetWare* [8]. His design is based on a laboratory micropipette, and thus it can avoid the cross-contaminations that result from using a syringe. Despite preventing the contaminations, this robot has a very narrow range of movement, which limits the number of procedures that can be performed. Moreover, its total size can difficult its implementation in a biology laboratory, which is usually restricted in terms of space.

The robot presented on this project, which we have named EVE, intends to maintain the strengths of the previously mentioned robots and tries to solve their limitations to create a LHR suitable for scientific laboratories.

2. Methods

Alike all LHR, EVE's routines will be based on the pipetting movement, which is the technique used to handle liquids with a micropipette. Pipetting consists in pressing the pipette's plunger on a sequence of movements that will allow the pipette to aspirate and release the liquid when desired.

To aspirate liquids, the pipette plunger is pressed until its first stop, which generates a positive pressure that removes the air from inside the pipette. Afterwards, the plunger is released, creating a negative pressure that aspirates the desired amount of liquid. To release the aspirated sample, the plunger must be pressed again until the first stop and afterwards until the second one. Pressing until the first stop releases the amount of liquid previously aspirated. However, it is necessary to press until the second stop to purge the pipette and ensure that no drop of liquid remains in the tip [9].

By implementing a specific sequence of pipetting processes, it is possible to create routines such as copying a plate, performing a dilution or filling a plate with medium from centrifuge tubes among others.

2.1. Hardware

EVE's hardware was designed to provide a balance between functionality and size. To do so, EVE's modules were designed first computationally using the software *Lego Digital Designer* (LDD) [10]. LDD is a computeraided design tool that provides a 3D environment where LEGO models can be assembled digitally.

Afterwards, the final design was built using the *LEGO Mindstorms EV3 Education* set and some extra pieces ordered to the LEGO store [11].

EVE's final hardware is divided into four different modules, each responsible for providing one of the four degrees of freedom necessary for operating the LHR (longitudinal displacement, transversal displacement, lifting movement and pressing/releasing the plunger). The structure and designs for those modules were inspired by the robot created by *Gerber et al* [7] but significant modifications were performed to adapt the syringe support for holding a pipette. The modules are the following:

1. Pipette support and plunger: holds the micropipette in its position and prevents it from moving. It is also responsible for pressing and releasing the plunger to take liquids.

2. Lift: lifts and lowers the pipette support imitating the arm lifting movement.

3. Cart: holds the EV3 Brick and allows the lift to move.

4. Frame: It is the exterior margin of the robot and holds the weight of all the other elements. It also contains the tip removing system and allows the cart to move.

The modules have to be installed as described in Figure 2h to compose the structure of EVE.

The modules are displaced using the power of four motors (three large and a small one). The large motors are used to move the pipette across a bidimensional plane and to lift and lower it. Meanwhile, the small motor will power the pressing/releasing of the plunger. The power produced by the motors will be transformed into module displacement using two different types of transmission systems. For most modules, a rack pinion system will be used. However, for the pipette lifting displacement, a geared transmission system was also introduced. This ensures that the pipette is homogeneously lifted from both sides.

For detaching used tips from the pipette we rely on the tip removing system. This element is a cornice placed perpendicularly to the pipette's position and will be used to detach passively the tips from the pipette. After filling each well, the pipette tip used has to be discarded to ensure sterility. To discard it, the pipette moves towards the tip removing system and is lowered, enabling that the tip is placed below the cornice. Then, the pipette is lifted, causing friction between both modules. This will generate the force needed for detaching the pipette tip from the pipette.

2.2. 3D printing

Besides the already mentioned modules, EVE has to integrate some non-LEGO elements that are essential for her functioning. Among those elements we find a tip box, two 96-well plates, a set of centrifuge tubes and a bin to discard the already used tips.

To incorporate these elements in the LEGO robot, three bases were created by using 3D printing technology. First, the holding base (Figure 2e), which sustains the non-LEGO elements in their optimal position and also contains the tip bin. Its main function is to allow the user to replace the plates, the tubes or remove the discarded tips without affecting the general calibration of the robot. Secondly, the tip box holder (Figure 2f). It sustains the tip box, containing new sterile tips, in its optimal position. Lastly, the positioning base (Figure 2g) is intended to ensure that the relative position between the holding base, the tip box holder and the LEGO robot is constant, even after reassembling it.

The design for the holding base includes two 96-well plate holders, a rack for microcentrifuge tubes and the tip bin. This base is divided into three different submodules for printing reasons, which can be re-assembled using dovetail joints [12].

The tip box was designed as an independent module. Its function is elevating the pipette tip box to ensure that the tips placed in it enter within the vertical range of movement of the pipette.

The positioning base (Figure 2g), holds together all the elements conforming the robot. The base contains six circular holes for inserting the pillars of the frame. It also has holes for fitting the holding base and the tip box base in their ideal positions. As it happened with the holding base, the positioning base was also too large for being

printed as a single piece and had to be divided into six different subpieces which can be reassembled using dovetail joints [12].

All 3D printed bases were designed using *Autodesk Meshmixer* [13] and printed on polylactic acid (PLA) by using *BQ Witbox 2* printers.



Figure 2: EVE modules and 3D printed bases. a-d) LEGO modules e-g) 3D printed bases. h) Complete assembly of the LHR.

2.3. Software

LEGO Mindstorms codes can be written in several programming languages. For this project, Python was chosen, since it is a text-based system and we were already familiarized with its syntaxis. The EV3 brick by itself is not prepared to handle Python out of the box. Therefore, it requires the installation of the *ev3dev* operating system [14] on the EV3 brick.

EVE's code can be broken into three main sections: the menu, the calibration process and the action codes. The menu provides the user with an interface to interact with the robot. EVE's menu is a *.txt* file in which the user can introduce the specifications for the desired routine. It allows to select the type of routine (copying, seeding or dilution), its direction (rows or columns) and the specific rows/columns used (select certain rows/columns).

Before executing the selected routine, EVE will perform a calibration process on two phases: manual and automatic

calibrations. The manual calibration is just a checkpoint, in order to guarantee that EVE was properly assembled and that all the modules are placed in their expected position, the origin (see Figure 3). Meanwhile, the automatic calibration will verify if the internal phase sensor of each motor has been reset before the new routine.

The action code will carry out the movements of the routine selected. Currently, we have implemented the code for copying a plate, seeding and performing a dilution across rows. All these codes are based on the same basic functions.

The *move_to* function, allows the pipette to be displaced to any desired position of its bidimensional range of movement. Inspired by a cartesian plane, we have generated a system of coordinates in which it is possible to represent any position of the plane in terms of the rotation angle required by the large motors (motors C and B) to move from the origin of coordinates to that specific point. Using this system (Figure 3), we can map all the positions relevant for the pipetting process (tips, wells, centrifuge tubes, tip removing system...) just as a list of coordinates, which afterwards we can use to create any desired routine.

The main drawback of this mapping is its high dependence on the origin position. The origin position of the module is considered the zero by the reference system. Since our mapping depends on the rotation angle with respect to the origin, it is essential that the resting position is set up correctly before starting any routine, to avoid biasing the system. To guarantee the correct positioning of the modules, EVE asks the user to check the module disposition before starting any routine (manual calibration) and also returns to the origin position after ending any procedure.



Figure 3: Sketch of EVE's mapping system.

After having defined the mapping, the *move_to* function will just compute the rotation angles (RA) that motors B and C have to turn to displace the pipette from the current position (CP) to the desired one (DP).

$$[RA_C, RA_B] = [DP_C, DP_B] - [CP_C, CP_B]$$

The code also contains three other basic functions, up_down , take_liquid and release_liquid. These functions use the same equation as the move_to function but applied to the other motors. The up_down function is responsible for lifting the pipette, while the take_liquid and the release_liquid execute the sequence of plunger displacements needed for pipetting. By combining these

functions it is possible to create routines that fill the whole 96-well plate.

3. Results

During this project, the design and assembly of EVE's hardware and the 3D printed bases were performed (Figure 2). Besides, EVE was coded to display an interactive menu and to perform some routines (copying a plate, seeding and performing a dilution across rows). These routines were tested using coloured water to have an insight into the effectiveness of EVE as a LHR.

The tests performed aimed at validating EVE's efficacy when performing simple movements and to evaluate its robustness during longer routines.

EVE showed high performance and reliability when doing basic movements like loading/removing a tip or pipetting single wells (see Figure 4 for the link to the video).

For longer procedures (copying a whole plate, seeding or performing a dilution) more work has to be done to improve their reliability and efficiency. Currently, EVE is able to copy or seed a full plate without errors in an average time of thirty minutes. However, some issues emerge when trying to perform the dilution process, which is a longer and more demanding process.



Link to the video: <u>https://www.youtube.com/</u> watch?v=T2AOwgtwtxo

Figure 4: Videos of EVE executing basic movements and complex routines.

4. Discussion

As can be seen in the video from Figure 4, EVE is able to handle liquids and perform some complex routines flawlessly. However, it still has some limitations in terms of reliability.

During dilution routines, the stress generated by the repetitive movements over the LEGO pieces can produce deviations on the pipette's positioning, eventually leading to the routine's failure. Therefore, future work must address this issue.

EVE's accuracy also has room for improvement. When comparing the volume handled by the robot with the volume taken by a manually operated pipette, EVE showed slight volume deviations. Although, EVE has proven to be very reliable in terms of precision.

We can currently say that EVE is a fully functional LHR even considering the existing limitations. It can copy a plate or seed it within approximately thirty minutes, a reasonable time for a LHR.

All these preliminary results hint EVE's potential to be a good approach for creating a low-cost LHR. However,

before introducing it in a scientific laboratory more tests have to be performed to assess its reliability and sterility.

It is noteworthy that, despite its limitations, EVE can be considered a functional LHR, and that this project has allowed us to demonstrate the potential of LEGO Mindstorms as a tool for building complex devices.

Bibliography

- 1. Mayr, L.M. and P. Fuerst, *The future of high-throughput screening*. J Biomol Screen, 2008. 13 (6): p. 443-8.
- 2. D'Argenio, V., *The High-Throughput Analyses Era: Are We Ready for the Data Struggle?* High Throughput, 2018. 7 (1).
- 3. Lemos, L.N., et al., *Rethinking microbial diversity analysis in the high throughput sequencing era.* J Microbiol Methods, 2011. 86 (1): p. 42-51.
- 4. Thorsen, T., *Microfluidic technologies for highthroughput screening applications*. 2003, California Institute of Technology.
- Kremova, L., D. Solichova, and P. Solich, Microplates in liquid chromatography--new solution in clinical research? A review. Talanta, 2013. 115: p. 973-9.
- 6. LEGO. *Lego Mindstorms: About ev3*. 2019 [cited 2019]; Available from: https://www.lego.com/es-es/mindstorms/about-ev3.
- 7. Gerber, L.C., et al., *Liquid-handling Lego robots* and experiments for STEM education and research. PLoS Biol, 2017. 15 (3): p. e2001413.
- Barknob, M. Liquid Handling Robot. 2010 [cited 2019]; Available from: https://openwetware.org/wiki/User:Mike_Barnko b/Projects/Liquid_handling_robot.
 Oliver Guidan Handling_robot.
- 9. Gilson, *Guide to Pipetting*. 2019 [cited 2019];
- 10. LEGO. *LEGO Digital Designer*. 2019 [cited 2019]; Available from: https://www.lego.com/en-us/ldd.
- 11. LEGO. *Bricks and pieces*. 2019 [cited 2019]; Available from: https://www.lego.com/enus/service/replacementparts.
- 12. Kirby, I.J., *The Complete Dovetail: Handmade Furniture's Signature Joint*. 2000: Stobart Davies.
- 13. Autodesk. *Meshmixer*. 2019 [cited 2019]; Available from: <u>http://www.meshmixer.com/</u>.
- 14. ev3dev. eve3dev is your EV3 re-imagined. Available from: https://www.ev3dev.org/.
El bloqueo de la corriente de calcio tipo-L dificulta la génesis y estabilidad de reentradas en tejidos formados por cardiomiocitos adultos y derivados de iPSC

A. Dasi¹, A. M. Climent², J. M. Ferrero¹, B. Trenor¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci²B), Universitat Politècnica de València, Valencia, España, aldaim@etsii.upv.es, {cferrero, btrenor}@eln.upv.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, acliment@cibercv.es

Resumen

Los cardiomiocitos humanos derivados de células madre pluripotentes inducidas (hiPSC-CMs) han mostrado tener un elevado potencial en la evaluación farmacológica. Sin embargo, su respuesta a fármacos cuando se acoplan formando tejidos sigue siendo objeto de investigación. Por ello, el presente estudio se realizó para determinar si el bloqueo de la corriente de Ca⁺² tipo-L (I_{CaL}) en un tejido virtual de hiPSC-CMs podría considerarse como una estrategia antiarrítmica.

Para analizar los efectos del bloqueo de I_{CaL} , su conductancia máxima (g_{CaL}) se redujo (verapamil) y comparó con la situación control. En ambas situaciones, el tejido se estimuló siguiendo un protocolo cross-field S1-S2. Se llevó a cabo un análisis de fases y se analizaron distintos parámetros, como la frecuencia de la reentrada ($f_{reentry}$), la ventana vulnerable (VW), la longitud de onda (WL) y la excitabilidad celular. Las simulaciones realizadas con hiPSC-CMs se repitieron con un tejido de cardiomiocitos ventriculares adultos (hAdultV-CMs).

Las reentradas donde I_{CaL} se redujo un 70% mostraron una reducción en la $f_{reentry}$ y en la VW del 6.9% y 47.83% respectivamente para hiPSC-CMs. En hAdultV-CMs, la $f_{reentry}$ disminuyó 4.2% y, además, no se formó ninguna reentrada estable que se mantuviera en el tejido más de 1100 milisegundos. Los resultados sugieren que bloquear I_{CaL} se podría considerar como una técnica antiarrítmica en un tejido cardíaco.

1. Motivación

El desarrollo de técnicas de maduración celular más precisas ha permitido la generación de cardiomiocitos humanos derivados de células madre pluripotentes inducidas (*human induced Pluripotent Stem Cell derived Cardyomyocytes*, hiPSC-CMs) capaces de predecir el comportamiento electrofisiológico de los cardiomiocitos (CM) adultos. Por consiguiente, su papel en investigación cardiológica se ha visto intensamente incrementado.

Especialmente en la evaluación farmacológica, el nuevo paradigma introducido por la iniciativa de la CiPA (*The Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay*) [1] destaca como ventajosas las siguientes medidas: 1) utilizar modelos computacionales para aportar robustez a la investigación experimental *in-vitro* y 2) realizar ensayos cardiotóxicos empleando hiPSC-CMs.

Sin embargo, la inmadurez remanente en el fenotipo de los hiPSC-CMs sigue cuestionando la validez de sus resultados. Para superar esta limitación, se aconseja la repetición y comparación de los experimentos con CMs adultos. Esta premisa, aunque poco viable *in-vitro*, es fuertemente beneficiosa *in-silico*, pues aporta solidez a la investigación y favorece la generación de modelos celulares más precisos.

En este sentido, diferentes estudios [2] han analizado *insilico* los efectos asociados al bloqueo de distintas corrientes iónicas entre el modelo de potencial de acción (AP) de hiPSC-CM y CM ventricular adulto (hAdultV-CM), remarcando una elevada sensibilidad al bloqueo de la corriente de Ca^{+2} tipo-L (I_{CaL}). Por tanto, la extensión de estos estudios a un nivel dimensional superior, que considere la propagación del AP, resulta muy prometedora.

En el presente trabajo, analizamos la génesis y naturaleza de una arritmia cardiaca (reentrada) en un tejido virtual de hiPSC-CMs y hAdultV-CMs y evaluamos los efectos asociados al bloqueo de I_{CaL} . El bloqueo de I_{CaL} se podría realizar *in-vitro* empleando el fármaco verapamil.

2. Métodos

Para analizar el comportamiento arritmogénico asociado al bloqueo de I_{CaL} , dos tejidos bidimensionales fueron modelados: uno utilizando la última versión del modelo iónico de hiPSC-CMs [3] y otro con la variación del modelo de hAdultV-CMs [4] introducida por Mora et al. (2017) [5]. Las condiciones geométricas y materiales (Tabla 1) de ambos tejidos se definieron sobre las bases de datos experimentales [6,7].

Tejido	$\sigma_{y/\sigma_{x}}$	$D\left(\frac{cm^2}{s}\right)$	CV _x (cm/s)	CV _y (cm/s)
hiPSC-CMs	1	$5.7 \cdot 10^{-6}$	2.0	2.0
hAdultV-CMs	4	0.0024	34.2	70.1

Tabla 1. Propiedades de la propagación del AP en el tejido virtual de hiPSC-CMs y hAdultV-CMs. σ es la conductividad del tejido, directamente proporcional a la velocidad de conducción (CV). Los subíndices "x" e "y" indican propiedades transversales y longitudinales, respectivamente.

En ambos tejidos, dos situaciones fueron estudiadas. Una establecida como control, sin cambios en los parámetros del modelo, y otra donde la conductancia máxima de I_{CaL} (g_{CaL}) se disminuyó un 70% para simular los efectos de la administración del fármaco, definida como verapamil.

Las simulaciones computacionales se realizaron usando *ELVIRA* [8], un software capaz de resolver la ecuación monodominio (Ec. 1). El programa emplea el método de los elementos finitos (FEM) para discretizar el espacio en

319

elementos conectados a través de nodos y aplica el método de partición del operador [9] para resolver las ecuaciones del modelo celular en cada nodo del tejido, considerando la propagación del potencial de membrana (V_m) a los nodos vecinos.

$$\nabla(DV_m) = C_m \frac{dV_m}{dt} + I_{ion} - I_{stim}$$
(1)

Donde C_m es la capacidad de membrana, I_{ion} es la suma de las corrientes del modelo celular, I_{stim} es una corriente de estimulación y D es el tensor de conductividad del tejido.

2.1. Ventana vulnerable para reentrada

Las reentradas se indujeron siguiendo un protocolo de estimulación *cross-field* S1-S2 y se prolongaron en el tejido 3000 milisegundos (ms). El intervalo de tiempo crítico, en el cual se aplicó el estímulo S2 y generó el ritmo reentrante, se calculó en ambas situaciones para caracterizar la ventana vulnerable (*VW*). La duración de la *VW* se utilizó como indicador del grado de arritmogenicidad.

Otros biomarcadores, como la frecuencia de la reentrada $(f_{reentry})$, la longitud de onda (WL) y la excitabilidad celular fueron evaluados. Asimismo, se realizó un análisis de fases para determinar el recorrido del centro (tip) del rotor [10,11]. El procesado de los biomarcadores se realizó utilizando el entorno de programación de *MATLAB*.

2.2. Análisis de fases

Las fases se calcularon aplicando la transformada de Hilbert (HT) al V_m (Ec. 2-3). Los puntos de singularidad de fase (PS) se obtuvieron como el lugar geométrico donde todas las fases convergen para cada instante temporal.

$$HT[V_m(t)] = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{V_m(\tau)}{t - \tau} d\tau$$
(2)
$$\theta = tan^{-1} \left(\frac{HT[V_m(t)]}{Vm(t)} \right)$$
(3)

El análisis de fases, y concretamente la detección de los PS, permitió estimar la WL a través del cálculo del perímetro del *tip* del rotor. Para ello, se generaron archivos binarios, estableciendo los puntos *PS* como hiperintensos y el resto del tejido como hipointenso, que fueron procesados mediante operadores morfológicos de imagen.

2.3. Excitabilidad celular

La excitabilidad celular se evaluó a través del análisis de las corrientes involucradas en la despolarización celular, i.e. la corriente rápida de Na^+ (I_{Na}) e I_{CaL} , ya que son las corrientes cuyas modificaciones producen variaciones más significativas en el núcleo de la reentrada [12,13]. Para cada nodo del tejido, se obtuvieron los valores de I_{Na} e I_{CaL} durante un giro completo del frente de onda. De los vectores resultantes, se seleccionó el valor máximo de cada corriente y se elaboraron mapas normalizados de la contribución de ambas corrientes. Como resultado, cada nodo fue representado por un valor equivalente a la corriente máxima entrante en la célula. Para tratar de cuantificar la zona de extinción del frente de onda en los mapas normalizados, se utilizaron los valores de corrientes de los puntos constituyentes del *tip* del rotor. Dicha zona se estimó estableciendo 5 umbrales: el mínimo valor de corriente $I_{CaL} + I_{Na}$, la media menos la desviación típica, la media, la media más la desviación típica y el valor máximo.

2.4. Frecuencia de la reentrada

La $f_{reentry}$ se computó como la media de la frecuencia de cada nodo del tejido. Asimismo, la frecuencia en cada nodo se calculó como la inversa del ciclo básico de estimulación (BCL).

3. Resultados

Los resultados de las simulaciones muestran que la reducción sustancial de I_{CaL} genera una mayor dependencia de I_{Na} durante la despolarización celular que limita la generación y transmisión del AP únicamente a aquellas células donde ésta última sea elevada. Como resultado, las células del tejido con verapamil tienen menor probabilidad de ser excitadas y el frente de onda serpentea (*meandering*) tratando de propagar en regiones eléctricamente disponibles. La Figura 1 ilustra el aumento del *meandering* del frente de onda a través del recorrido del *tip* del rotor.



Figura 1. Mapas de V_m y de la fase asociada en un instante de tiempo en el tejido de hiPSC-CMs (panel A) y hAdultV-CMs (panel B). Comparación del movimiento del tip del rotor –representado por la línea azul dibujada en los mapas de fases– entre la situación control y verapamil.

El incremento del recorrido del tip en el tejido con verapamil (Tabla 2) es indicativo de un agrandamiento de la WL.

Tejido	Situación	Perímetro (cm)	Tiempo (ms)
hipsc cMa	Control	0.12	386
hiPSC-CMs	Verapamil	1.21	724
h AdultV CMa	Control	4.84	270
nAuutiv-CMs	Verapamil	22.64	220

Tabla 2. Comparación de la distancia (perímetro) recorrida por el tip del rotor en el segundo bucle de la reentrada y el tiempo que tardó en efectuarla entre la situación control y verapamil para los tejidos de hiPSC-CMs y hAdultV-CMs.

Considerando que la $f_{reentry}$ es inversamente proporcional a la WL, un importante aumento de la WL ocasiona la reducción de la $f_{reentry}$, como se muestra en la Figura 2.



hiPSC-CMs	Control	1.623 ± 0.091
nii SC-CMS	Verapamil	1.511 ± 0.145
hAdultV-CMs	Control	3.872 ± 0.172
	Verapamil	3.709 ± 0.366



La disminución de la excitabilidad celular ante la aplicación del fármaco se aprecia con detalle en la Figura 3. Como los mapas normalizados constituyen, para cada nodo, la suma de la contribución máxima de $I_{CaL} + I_{Na}$, la zona más oscura (0-0.15 en la Figura 3: $I_{CaL} + I_{Na}$) es representativa de las regiones donde la corriente de entrada ha sido tan pobre, que la célula no ha podido generar el AP ni propagarlo a los nodos vecinos. Esta zona sombría, que hemos denominado zona de extinción en la Figura 3, representa el núcleo de reentrada, caracteriza la WL e ilustra el movimiento que ha realizado el frente de onda.

Si bien los mapas $I_{Na} + I_{CaL}$ ya indican cualitativamente que el núcleo de la reentrada es más extenso en el tejido

con verapamil, la identificación de dicha zona mediante los valores de corriente del *tip* del rotor consolida una prueba cuantitativa.



Figura 3. Mapas normalizados del pico máximo de las corrientes de despolarización en el segundo bucle de la reentrada. La segunda columna ilustra la zona de extinción acorde al establecimiento de 5 umbrales: el mínimo valor de corriente de los puntos del tip (valor 1), la media menos la desviación típica (valor 2), la media (valor 3), la media más la desviación típica (valor 4) y el máximo (valor 5).

En ambos tejidos, hiPSC-CMs y hAdultV-CMs, se puede observar una zona de extinción superior después de la aplicación de verapamil. Este aumento del núcleo de la reentrada corrobora la pérdida de excitabilidad celular.

Asimismo, el bloqueo de calcio ha disminuido el ancho de la VW un 47.83% en el tejido de hiPSC-CMs, pasando de 115 \pm 5 a 60 \pm 5 ms (Tabla 3).

Tejido	Situación	Intervalo (ms)	VW (ms)
hipsc cMa	Control	[475,480] –[590,595]	115±5
nir sc-cms	Verapamil	[550,555] – [610,615]	60±5

 Tabla 3. Características de la VW en control y bloqueo para el tejido de hiPSC-CM.

En hAdultV-CMs, la administración de verapamil no ha permitido la formación de reentradas estables, que se mantuvieran en el tejido más de 1100 ms. Si bien en situación control se pudo evaluar la reentrada durante el mismo intervalo de tiempo que en el tejido de hiPSC-CMs, con verapamil, no solamente las reentradas duraron de forma ininterrumpida un tiempo tres veces inferior, sino que en los extremos de una hipotética VW, cuando empezaban a aparecer signos del ritmo reentrante, las reentradas se extinguían después del primer bucle de la reentrada, pasados únicamente 100-300 ms. Por esta razón, no se ha considerado el cálculo de la VW como un biomarcador informativo en este tejido.

4. Discusión

Los resultados obtenidos sugieren que el bloqueo de los canales de calcio podría disminuir la vulnerabilidad de las reentradas en un tejido de hiPSC-CMs. Se ha observado que el *meandering* del frente de onda favorece la reducción de la $f_{reentry}$ y la pérdida de la excitabilidad celular condiciona una menor duración de la *VW*. Por tanto, son reentradas que tienden a extinguirse por el *meandeing* requerido en la búsqueda de zonas excitables y que tienen una probabilidad de aparición inferior. Asimismo, la repetición de los experimentos en el tejido de hAdultV-CMs ha corroborado el potencial de esta estrategia. Aparte de reducir la $f_{reentry}$, coincidiendo con los resultados de los hiPSC-CMs, ha constatado la inestabilidad de las reentradas y su predisposición a extinguirse cuando se deprime I_{CaL} .

Pero a pesar de haberse realizado numerosos estudios analizando los efectos del verapamil en diversos tejidos cardiacos, esta técnica sigue generando controversia. Si bien algunas investigaciones [12,14] apuntan a una reducción de la $f_{reentry}$, debido a la gran importancia de I_{CaL} en la continuidad y estabilidad de las reentradas [11], otros estudios [15] remarcan que la reducción de I_{CaL} tiende al acortamiento del periodo refractario y de la WL, ocasionando un incremento del ritmo reentrante.

Como se ha observado en experimentos que consideraban fibrilación ventricular (FV) [16], la administración del fármaco ha ocasionado un incremento de la curvatura de la reentrada y por tanto un aumento de su núcleo. En FV, un aumento considerable de la longitud de onda favorecería la colisión de múltiples rotores y la extinción de las reentradas [11]. Asimismo, la reducción significante de la $f_{reentry}$ podría suponer la desaparición del ritmo reentrante, que quedaría enmascarado bajo la frecuencia dominante del nódulo sinusal.

Por consiguiente, el presente estudio demuestra que la disminución de I_{CaL} consolida una estrategia antiarrítmica, ya que dificulta la génesis y mantenimiento de arritmias en tejidos de hiPSC-CMs y hAdultV-CMs.

Referencias

- Colatsky T, Fermini B, Gintant G et al. "The Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) initiative - Update on progress", V. J Pharmacol Toxicol Methods, vol. 81, 2016, pp. 15-20, (ISSN: 1873-488X).
- [2] Paci M, Hyttinen J, Rodriguez B et al. "Human induced pluripotent stem cell-derived versus adult cardiomyocytes: An in silico electrophysiological study on effects of ionic

current block", *British Journal of Pharmacology*, vol. 172, no. 21, 2015, pp. 5147-5160, (ISSN: 1476-5381).

- [3] Paci M, Pölönen RP, Cori D et al. "Automatic optimization of an in silico model of human iPSC derived cardiomyocytes recapitulating calcium handling abnormalities", *Frontiers in Physiology*, vol. 9, 2018, pp. 1-14, (ISSN: 1664-042X).
- [4] O'Hara T, Virág L, Varró A et al., "Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation", *PLoS Comput Biol*, vol. 7, 2011, (ISSN: 1553-734X).
- [5] Mora MT, Ferrero JM, Romero L et al. "Sensitivity analysis revealing the effect of modulating ionic mechanisms on calcium dynamics in simulated human heart failure", *PLoS ONE*, vol. 44, 2017, pp. 1-19, (ISSN: 2325-887X).
- [6] Garreta E, de Oñate L, Fernández-Santos M et al. "Myocardial commitment from human pluripotent stem cells: Rapid production of human heart grafts", *Biomaterials*, vol. 98, 2016, pp. 64-78, (ISSN: 1878-5905).
- [7] Taggart P, Sutton P, Opthof T et al. "Inhomogeneous transmural conduction during early ischemia in patients with coronary artery disease". *J Mol Cell Cardiol*, vol. 32, 1999, pp. 621-630, (ISSN: 0022-2828).
- [8] Heidenreich E, Ferrero J, Doblaré M et al. "Adaptive macro finite elements for the numerical solution of monodomain equations in cardiac electrophysiology". *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 38, 2010, pp. 2331–2345, (ISSN: 0090-6964).
- [9] Strang G, "On the construction and comparison of difference schemes," *SIAM J. Numer. Anal.*, vol. 5, no. 3, 1968, pp. 506 – 517, (ISSN: 0090-6964).
- [10] Martínez-Mateu L, Romero L, Ferrer-Albero A et al. "Factors affecting basket catheter detection of real and phantom rotors in the atria: A computational study", *PLOS Computational Biology*, vol. 14, no. 3, 2018, pp. 1-26, (ISSN: 1553-7358).
- [11] Gray R, Pertsov A, Jalife J, "Spatial and temporal organization during cardiac fibrillation", *Nature*, vol. 392, no. 6671, 1998, pp. 75-78, (ISSN: 0028-0836).
- [12] Samie F, Mandapati R, Gray R et al. "A mechanism of transition from ventricular fibrillation to tachycardia", *Circulation*, vol. 86, no. 6, 2000, pp. 684-691, (ISSN: 0009-7330).
- [13] Kneller J, Kalifa J, Zour R et al. "Mechanisms of atrial fibrillation termination by pure sodium channel blockade in an ionically-realistic mathematical model", *Circulation*, vol. 95, no. 5, 2005, (ISSN: 1524-4571).
- [14] Jin Q, Dosdall D, Rogers J et al. "Verapamil reduces incidence of reentry during ventricular fibrillation in pigs", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol. 307, no. 9, 2014, pp. H1361-H1369, (ISNN: 0363-6135)
- [15] Chorro F, Cánoves J, Guerrero J et al., "Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: an experimental study", *Circulation*, vol. 101, no. 13, 1999, pp. 1606–1615, (ISSN: 0009-7322).
- [16] Mandapati R, Asano Y, Baxter WT et al. "Quantification of effects of global ischemia on dynamics of ventricular fibrillation in isolated rabbit heart". *Circulation*, vol. 98, 1998, pp. 1688–1696, (ISSN: 0009-7322).

Análisis de la morfología de la señal de la voz para la intubación de pacientes en una intervención quirúrgica

I. Moragues^{1,4}, C. Rodiera², R. Borrás², A. Valls³, S. Julian⁴, F. Callicó⁴, J. Rodiera⁴, B.F. Giraldo^{1,5}

¹ Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Dept. ESAII, EEBE, Barcelona, España; belmoragues@gmail.com, <u>beatriz.giraldo@upc.edu</u>

² Departamento de Anestesiología, Hospital Universitario de Dexeus, Barcelona, España

³ Instituto Maxilofacial, Centro Médico Teknon, Barcelona, España

⁴ Servicio Central de Anestesiología, Centro Médico Teknon, Barcelona, España

⁵ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC-BIST), Barcelona, España

Resumen

Las intervenciones quirúrgicas con anestesia general requieren la intubación del paciente para mantener su actividad respiratoria. Determinar el nivel de dificultad de una intubación endotraqueal puede evitar complicaciones al paciente. Actualmente, la práctica clínica considera escalas e índices de carácter subjetivo para la valoración del estado de la vía aérea. Este trabajo propone una nueva herramienta para determinar el estado de la vía aérea, a partir de la caracterización de la señal de la voz. Se ha diseñado una aplicación para capturar el sonido de las vocales, en tres posiciones diferentes de la cabeza: normal, flexión y extensión. Las señales de voz fueron caracterizadas considerando parámetros relacionados con su frecuencia, su energía, su potencia y su morfología. La clasificación clínica de los pacientes se realizó a partir del Test de Arné, que incluye la escala de Mallampati, para determinar el nivel de dificultad de intubación. Se analizaron 54 pacientes, 15 fonemas por cada señal de audio, obteniéndose 555 parámetros. Los pacientes fueron clasificados, de acuerdo con la escala de Mallampati en dos grupos: sin (1-2) y con (3-4) dificultad de intubación. Un total de 53 parámetros presentaron diferencias estadísticamente significativas. Los pacientes fueron clasificados aplicando métodos basados en máquinas de soporte vectorial, k-vecinos próximos, y métodos combinados como AdaBoost, RusBoost y LogitBoost. Los resultados fueron validados con el método leave one-out cross-validation. La mejor clasificación de los pacientes se obtuvo con el método combinado AdaBoost, con una precisión del 75.9%, sensibilidad del 70% y especificidad del 79%.

1. Introducción

En todo proceso de anestesia general se requiere la intubación endotraqueal del paciente para poder mantener su respiración. Esta técnica puede suponer complicaciones para el paciente, tales como, perforaciones, obstrucciones de las vías aéreas y/o parálisis de las cuerdas vocales, dependiendo de las características anatómicas que se presenten. Una intubación difícil imprevista se considera clínicamente como un estado de crisis. Predecir el estado de la vía aérea de los pacientes, previamente a la realización de procesos quirúrgicos, se hace necesario para reducir el riesgo de complicaciones durante este proceso. Diferentes estudios presentan metodologías con escalas cualitativas, para determinar el grado de dificultad en una intubación, analizando la anatomía del paciente y sus antecedentes clínicos [1,2]. Sin embargo, esta valoración dependerá del criterio del médico y de la participación del paciente durante su clasificación.

La caracterización de la vía aérea también se puede realizar analizando la señal de voz. A partir de características de esta señal relacionadas con su frecuencia, energía, potencia y morfología se podrían obtener parámetros que ayuden en la intubación de pacientes en procesos quirúrgicos. En este estudio se propone diseñar una nueva herramienta para analizar la morfología de la señal de la voz a través del registro del sonido de las vocales, considerando tres diferentes posiciones de la cabeza: normal, flexión y extensión. A partir de estos resultados, se propone la clasificación de los pacientes (dificultad o no en la intubación), utilizando diferentes métodos.

2. Valoración de la dificultad de intubación

Actualmente, los métodos más utilizados en la práctica clínica para valorar el grado de dificultad de una intubación se basan en la escala de Cormack–Lehane y el Test de Arné.

2.1. Escala Cormack–Lehane

Esta escala permite hacer una valoración (de 1 a 4) de la visualización de las estructuras anatómicas de la laringe, en una laringoscopia directa [3]. Esta medida es considerada el *gold standard* para evaluar la dificultad de la intubación, durante una anestesia general, siendo calculada de forma invasiva, al momento de la intervención (Figura 1).



Figura 1. Escala de Cormack–Lehane [3]

2.2. Test de Arné

El test es una prueba predictiva no invasiva realizada al paciente en la consulta preanestésica. Evalúa parámetros relacionados con antecedentes anestésicos, patologías, síntomas y características antropométricas del paciente [4].

Cada variable del test supone un factor de riesgo, y está asociado a una puntuación específica. El total de la puntuación determina el nivel de dificultad de la vía aérea, siendo un valor superior a 11 clasificado como difícil. Uno de los parámetros más importantes de este test es la escala de Mallampati [5]. Esta escala define cuatro diferentes niveles de la estructura de la laringe, asociados a diferentes grados de dificultad en la intubación. Esta medida es tomada con el paciente sentado y con la boca abierta (Figura 2).



Figura 2. Escala de Mallampati [5]

3. Ensayo clínico

Para analizar la relación entre la voz y las características anatómicas del tracto vocal de un paciente se registró su voz durante su visita preanestésica. En paralelo se recogieron sus datos demográficos y los parámetros resultantes del Test de Arné. Se diseñó una aplicación móvil *VADVeu*, que permite guiar al paciente durante el registro de la señal de voz y almacenar toda la información del estudio.

3.1. Protocolo clínico

Los audios registrados contienen la pronunciación de las cinco vocales ('A','E','I','O','U') en tres posiciones diferentes de la cabeza: posición normal (mirando hacia delante), posición de extensión y posición de flexión. Cada vocal se pronuncia durante 1.5s, con pausas de 1s entre letras, obteniendo un total de 15 fonemas. Los pacientes permanecen sentados durante el registro. Los fonemas de las vocales son sonoros que los de otras letras, presentando mayor información relacionada con la anatomía del tracto vocal, las vibraciones de las cuerdas vocales y la morfología de la voz.

3.2. Registro de pacientes

Se registraron 54 pacientes en el Servicio Central de Anestesiología del Centro Médico Teknon, Barcelona, previo consentimiento escrito. De acuerdo con el protocolo clínico, se clasificaron según la escala de Mallampati, con vía aérea fácil (1,2) y con vía aérea difícil (3,4). La Tabla 1 presenta información demográfica de los pacientes analizados. La información ha sido registrada con un dispositivo móvil *Samsung Galaxy S7*®.

	Mallampati 1-2	Mallampati 3-4
Pacientes	34 (62.96%)	20 (37.04%)
Altura (cm)	169.62 ± 10.44	167.80 ± 7.82
Edad (años)	51.03 ± 10.07	60.05 ± 10.30
Género	15 (M) 19 (H)	8 (M) 12 (H)
IMC (Kg/m ²)	24.96 ± 3.59	27.70 ± 3.84
Peso (Kg)	72.12 ± 13.50	78.15 ± 13.23

 Tabla 1. Información demográfica de los pacientes registrados

3.3. Aplicación VADVeu

La aplicación móvil *VADVeu* ha sido diseñada para indicar al paciente el protocolo a seguir y recoger la información

clínica objeto del estudio (Figura 3). La aplicación está conectada con la base de datos del hospital. Esta ha sido programada utilizando *software* Android Studio.



Figura 3. Secuencia de imágenes de guía para el paciente durante la grabación de la voz

4. Caracterización de la señal de la voz

4.1. Pre-procesado de la señal

Las señales de voz, registradas a 48kHz, fueron filtradas para disminuir las interferencias eléctricas, la componente continua y eventos no relacionados con el proceso. Se aplicó un filtro pasabanda, con frecuencias de corte de 30Hz y 8500Hz, respectivamente, limitando el rango de la voz (Figura 4). La señal correspondiente a cada vocal fue obtenida a partir del análisis de la entropía.



Figura 4. Registro de la señal de voz de cada vocal y en cada posición

4.2. Extracción de características

Para caracterizar las señales de voz se han extraído parámetros relacionados con su frecuencia, su energía, su potencia, su morfología y la perturbación de la voz. La Figura 5 es una representación de la morfología de las vocales.



Figura 4. Morfología de las señales de voz en función de la vocal pronunciada

Para cada vocal se obtuvieron los siguientes parámetros frecuenciales:

- Frecuencia fundamental o *Pitch* (f₀): a partir de la detección de pulsos de la señal
- Extracción de los harmónicos
- Extracción de los formantes
- Análisis de la densidad espectral de potencia
- Relación entre las bandas de energía
- Potencia de la señal en el rango 0 5kHz en intervalos de 500Hz

Los parámetros acústicos que miden la perturbación de la voz son:

- El parámetro Jitter
- El parámetro Shimmer
- La ratio harmónico ruido
- La energía del ruido normalizada
- El índice de turbulencia de la voz

Estos parámetros aportan información sobre la zona de resonancia y las estructuras anatómicas del tracto vocal, las frecuencias, energías y potencias presentes en las señales, la pureza de la voz, y el ruido presente en ella a causa del cierre incompleto de la glotis.

Para analizar la dependencia de los parámetros de la voz en función de las posiciones de la cabeza, se definieron dos nuevos parámetros: ratio de extensión (relación entre la posición normal y de extensión) y ratio de flexión (relación entre la posición normal y de flexión).

4.3. Análisis estadístico

Para el análisis de la morfología de la señal de voz, los pacientes fueron clasificados en dos grupos: con vía aérea fácil y con vía aérea difícil. Los parámetros extraídos fueron descritos en función de la mediana, desviación estándar, varianza y curtosis. El test de Wilcoxon fue aplicado para analizar las diferencias de cada fonema en función de su posición. La selección de los parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes fue realizada a través del test de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados fueron analizados para un nivel de significación de $p \le 0.5$. La clasificación de los pacientes se analizó en función de precisión, sensibilidad y especificidad.

4.4. Métodos de clasificación

La clasificación de los pacientes se realizó aplicando diferentes métodos a los parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes.

- Máquinas de soporte vectorial (SVM) [6]
- K-vecinos próximos (KNN) [7]
- Métodos combinados mediante boosting y bagging [8]

Cada tipo de clasificador se optimizó considerando en cada caso un 50%, 60% y 70% de la muestra para su entrenamiento. El porcentaje restante en cada caso fue utilizado para la validación de los métodos. La calidad de los resultados fue analizada aplicando el método de validación cruzada *leave one out cross-validation*.

5. Resultados

Se analizaron 54 pacientes que realizaron una visita preanestésica antes de su intervención quirúrgica. De acuerdo con el resultado del Test de Arné, ningún paciente fue considerado de intubación endotraqueal difícil. Al aplicar la escala de Mallampati, un 63% de los pacientes fueron clasificados como de intubación fácil, y un 37% de intubación difícil.

A partir de las señales de voz de los pacientes se extrajeron 37 parámetros para cada vocal y posición realizada, obteniendo un total de 555 características. Aplicando criterios de reducción de dimensionalidad, 53 parámetros presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes.

La Tabla 2 presenta los mejores resultados obtenidos con los clasificadores SVM y KNN. En la clasificación de los pacientes con el método SVM, sus parámetros fueron optimizados aplicando el método Bayesiano, para determinar las características del *Kernel* Gaussiano, σ y C. Todos los procesos presentaron una baja sensibilidad, lo que indicaría una mala identificación de los pacientes con vía aérea difícil.

Para la clasificación con el método KNN, el número de *k*-vecinos próximos y el tipo de distancia fueron optimizados. Una de las optimizaciones obtuvo un clasificador con la mayor sensibilidad del estudio, pero el resto de los clasificadores del mismo método obtuvieron resultados de la sensibilidad cercanos al 10%.

El mejor equilibrio entre precisión, sensibilidad y especificidad se obtuvo con los métodos combinados (Tabla 3). La efectividad del método está basada en la configuración del número de ciclos y la ratio de aprendizaje. El mejor método fue AdaBoost, con 31 ciclos de aprendizaje.

SVM					
Sigma(σ)	Factor C	Acc%	Sp%	Sn%	
1	1	77.8	88.2	45.0	
	k	NN			
k-vecinos	Distancia	Acc%	Sp%	Sn%	
2	Hamming	98.2	100.0	95.0	
3	Hamming	66.7	100.0	10.0	

Tabla 2. Resultado del análisis de clasificadores SVM y KNN

Métodos combinados						
Porcentaje	Método	Acc%	Sp%	Sn%		
50%	LogitBoost	74.1	82.4	60.0		
60%	RusBoost	70.4	70.6	70.0		
70%	AdaBoost	75.9	79.4	70.0		

Tabla 3. Resultado del análisis de métodos combinados

La Figura 5 representa las curvas ROC obtenidas para evaluar la fiabilidad y robustez de los métodos combinados de acuerdo con su optimización (Tabla 3).



Figura 5. Curva ROC de los métodos combinados

6. Discusión y conclusión

Se ha definido un protocolo para el registro y la identificación del nivel de dificultad de intubación de pacientes sometidos a procesos quirúrgicos. Se ha diseñado la aplicación *VADVeu* para registrar las señales de voz, los datos demográficos y de los protocolos clínicos de los pacientes objeto de estudio. Los pacientes analizados han sido clasificados de acuerdo con la escala de Mallampati, la cual aporta información relevante relacionada con la estructura del tracto vocal y la movilidad de la cabeza.

La clasificación de los pacientes se hizo con diferentes métodos de clasificación, optimizados con distintos porcentajes de muestra. El método de SVM en todas sus optimizaciones presentó una sensibilidad baja para la aplicación clínica esperada. Se considera que este tipo de algoritmos no se adaptan al problema descrito ya que no permite diferenciar entre las dos poblaciones de forma satisfactoria. La clasificación con el método KNN presentó una alta variabilidad en los resultados de las distintas optimizaciones de sus parámetros.

El resultado de clasificación más robusto y fiable se obtuvo con los métodos combinados utilizando el método *AdaBoost* con una precisión del 75.9%, una especificidad del 79.4%, y una sensibilidad del 70%. Los resultados obtenidos con los otros métodos combinados presentaron valores de sensibilidad similares. En consecuencia, se ha seleccionado este método (*AdaBoost*) como el más eficiente en este estudio, para clasificación de pacientes, considerando el nivel de dificultad de intubación en una intervención quirúrgica, a partir de la morfología de la señal de la voz.

En la población actual la incidencia de vía aérea difícil es reducida, aproximadamente de un 0.05%, lo que ha dificultado la obtención de registros de voz del grupo de estos pacientes [9]. En la práctica clínica, el caso más crítico de intubación endotraqueal se produce cuando un paciente presenta una vía aérea difícil imprevista. Por este motivo, el parámetro de evaluación de los clasificadores más relevante es la sensibilidad, el cual debe ser lo más elevado posible.

Los resultados del sistema se han visto condicionados por la muestra reducida de pacientes registrados, la necesidad de utilizar la técnica de validación *Leave one-out crossvalidation* y por la clasificación de la vía aérea de los pacientes basada únicamente en el valor de Mallampati. De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa una clara relación entre la señal de la voz y la morfología del tracto vocal. Su análisis ha permitido definir parámetros que podrían contribuir a un mayor conocimiento en el proceso de intubación de pacientes, previo a una intervención quirúrgica.

Para lograr una mayor efectividad de la herramienta clasificatoria creada, el sistema se debería validar con un mayor número de pacientes para encontrar una mayor incidencia de vía aérea difícil en la muestra. Además, se podría sustituir la variable clasificatoria por la Escala de Cormack (el *gold standard* de detección de vía aérea difícil) o por una combinación de las variables del Test de Arné.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el programa CERCA, la Secretaría de Universidades e Investigación del Departamento de Economía y Conocimiento de la Generalitat de Catalunya (GRC 2017 SGR 1770), y por el Ministerio de Economía y Competitividad de España (DPI2015-68820-R MINECO/FEDER).

Referencias

- Orozco-Díaz, É. et al. Predicción de intubación difícil mediante escalas de valoración de la vía aérea. *Cirugía y Cirujanos, vol* 78, nº 5, 2010.
- [2] Shiga T, Wajima Z, Inoue T, Sakamoto A. Predicting Difficult Intubation in Apparently Normal Patients. *Survey* of Anesthesiology, vol. 50, n° 2, pp. 70-71, 2006. (ISSN 0039-6206).
- [3,5] John F Butterworth IV, F.I. et al. Clinical Anesthesiology a LANGE medical book Morgan & Mikhail's, 2013. (ISBN 9780071714051).
- [4] Valero, R. et al. Avaluació i maneig dels pacients amb via aèria difícil. estudi QUAVA. *Annals de Medicina*, vol. 94, nº. 94, pp. 148-152, 2011.
- [6] Yadav P. Speech Emotion Classification using Machine Learning. *International Journal of Computer Applications*, vol. 118, nº 13, pp. 44-47, 2015.
- [7] Huang M.W. et al. SVM and SVM ensembles in breast cancer prediction. *PLoS ONE*, vol. 12, nº 1, 2017. (ISSN 19326203).
- [8] Schapire R.E. The Boosting Approach to Machine Learning: An Overview. *MSRI Workshop*, pp: 149-171, 2013.
- [9] Srinivasan, C. i Kuppuswamy, B. Comparison of validity of airway assessment tests for predicting difficult intubation. *The Indian Anaesthetists Forum*, vol. 18, núm. 2, pp. 63,2017. (ISSN 0973-0311).

Diseño de un protocolo de cultivo de neuronas sobre fibras de fibroína para aplicaciones neurorregenerativas

J. Mercado Gómez, M. Ramos Gómez, J. Pérez Rigueiro

Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, jj.mercado@alumnos.upm.es

Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón, España, {milagros.ramos@ctb.upm.es, jose.perez@ctb.upm.es}

Resumen

En este estudio se evalúa la aplicación de la fibroína como biomaterial de sustrato para el desarrollo y diferenciación neuronal, y especialmente, su capacidad de guiado del crecimiento axonal. Los resultados obtenidos confirman la elevada biocompatibilidad de la fibroína, y demuestran la existencia de un importante fenómeno de interacción entre las células y el biomaterial, que provoca su adhesión y migración. La fibroína demuestra, además, una extraordinaria capacidad de guiado nervioso, que da lugar a la formación de axones neuronales que crecen siguiendo la dirección de las fibras del biomaterial. Este resultado es especialmente relevante debido a la importancia del correcto guiado del crecimiento axonal en el ámbito de la regeneración nerviosa. Como consecuencia, se plantea la utilización de la fibroína como biomaterial de sustrato en futuras aplicaciones de regeneración nerviosa.

1. Introducción.

En la actualidad, los trastornos neurológicos constituyen uno de los principales problemas de salud mundial, debido al enorme impacto que producen a nivel humano, económico y social [1]. Por desgracia, a día de hoy, el daño neurológico grave es irreversible, por lo que los esfuerzos terapéuticos se centran en la prevención y el tratamiento de sus síntomas. Como consecuencia, la cronicidad a la que derivan este tipo de trastornos multiplica la enorme repercusión social y económica que conllevan.

En este contexto, la fibroína constituye un biomaterial candidato para aplicaciones de regeneración nerviosa que reviertan la escasa capacidad regenerativa del tejido nervioso. La fibroína es una proteína de gran tamaño, fabricada por algunos artrópodos, como los gusanos de seda de la especie bombyx mori. Destaca por su resistencia y resiliencia mecánica, su estabilidad térmica, y su elevada citocompatibilidad [2-3], constituyendo una alternativa interesante para aplicaciones de ingeniería de tejidos donde los andamios requieran una elevada biocompatibilidad y robustez mecánica.

En este estudio se plantea el uso de la fibroína en forma de fibras no sólo para su actuación como soporte de adhesión celular, sino por su posible potencial en la promoción del guiado axonal en aplicaciones de regeneración nerviosa.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de fibras de fibroína

Las fibras de fibroína se obtienen de la seda de capullos de la especie Bombyx mori, siendo necesario un proceso de disolución y resíntesis de la proteína, mediante una técnica de hilado biomimética (Straining Flow Spinning) [4]. Las fibras se disponen de de forma paralela en cubreobjetos circulares de vidrio (borosilicato de 12 mm de diámetro) y son adheridas a la superficie del cubre por sus extremos mediante la utilización de un adhesivo basado en polidimetilsiloxano, del que previamente se demostró su biocompatibilidad con las células utilizadas. Finalmente, los portaobjetos con las fibras son colocados en placas de poliestireno P24, donde son esterilizados mediante una hora de exposición a luz ultravioleta previa al sembrado celular.

2.2. Cultivo primario de neuronas

Se cultivaron neuronas de corteza de ratón, extraídas de embriones de ratones CD-1 con 18 días de gestación [5], y sembradas sobre placas de cultivo celular P24 de poliestireno.

El protocolo de cultivo consistió en el sembrado de 1 millón de neuronas en 0,5 mL de medio Neurobasal + suero bovino fetal (SBF). Los cultivos fueron realizados sobre cubres de fibroína previamente esterilizados e introducidos en cada uno de los pocillos a sembrar. Transcurridas 24 horas, el medio de cultivo Neurobasal (SBF) se sustituye por este otro: Neurobasal, suplementos B27 (Gibco®) al 2% (favorece la supervivencia celular), penicilina al 10% y estreptomicina al 1% [6]. Para el mantenimiento del cultivo, se renovó el medio (ya siempre empleando el Neurobasal con B27) tres veces por semana.

3. Resultados

3.1. Citocompatibilidad

El cultivo primario de neuronas en condición de suspensión, sobre placas de cultivo que carecen de tratamientos superficiales adherentes, da lugar a la formación de agrupaciones esféricas celulares formadas por neuronas y astrocitos, denominadas neuroesferas [7]. Para estudiar de forma cuantitativa la viabilidad celular de los cultivos sobre fibroína se recurrió a los ensayos XTT. En la Figura 1 se pueden observar los resultados de los ensayos XTT, que muestran una viabilidad similar en la condición Control y con fibroína, concluyéndose que la fibroína no ejerce ninguna influencia sobre la viabilidad del cultivo celular, confirmándose su biocompatibilidad y no toxicidad para los intervalos de tiempo estudiados.



Figura 1. Ensayo XTT para 1, 7 y 14 días. N=4.

3.2. Efecto de la fibroína sobre el tamaño de las neuroesferas

Para evaluar el efecto de la interacción de las células con las fibras de fibroína y su repercusión en el tamaño y distribución de las neuroesferas (NE), se realizaron tinciones de calceína. Se analizaron cultivos con alta densidad de fibras de fibroína (AD), 24.7 fibras/mm², donde se observan gran número de las mismas, con elevada homogeneidad en su disposición; baja densidad de fibras (BD), 2.0 fibras/mm², y con una distribución irregular, generando amplios espacios con ausencia de fibras; y en ausencia de fibroína (Control), donde las células se encuentran suspendidas en el medio.

Observando las imágenes de transmisión y fluorescencia de calceína a bajos aumentos (Figura 2) se aprecia como las fibras parecen ejercer un efecto modulador en el tamaño y distribución de las neuroesferas.



Figura 2.Imágenes de microscopía óptica de transmisión (A-C) y fluorescencia de calceína (D-F). Barra de escala:500 μm

Se empleó un algoritmo implementado en Matlab®, para la cuantificación de los parámetros de tamaño y número

de neuroesferas, obteniendo resultados sobre el porcentaje de superficie ocupado por las neuroesferas según su tamaño, en las condiciones de cultivo comentadas anteriormente: AD, BD y Control (Figura 3). La información se obtuvo a partir de 6 cultivos diferentes para cada una de las 3 condiciones, mantenidos durante 14 días. Los resultados pueden observarse en la Tabla 1. La dependencia estadística entre las variables de área relativa ocupada por cada tamaño de neuroesferas y la densidad de fibras de fibroína del scaffold fue evaluada, concluyendo que ambas variables están correladas para un nivel de confianza del 99.9% (χ 2, p<0.001), confirmando, por tanto, que las fibras de fibroína ejercen un efecto modulador sobre la distribución de tamaños de NE.



Figura 3. Porcentaje de superficie celular ocupado por cada tamaño de NE: pequeñas (radio menor que 84 μm), medianas (radio comprendido entre 84 y 168 μm), grandes (radio mayor que 168 μm)

	Control		BD		AD	
	Área (%)	SD (%)	Área (%)	SD (%)	Área (%)	SD (%)
Pequeñas R<84µm	4.98	3.39	12.30	1.63	25.45	7.97
Medianas 84 <r<168µm< td=""><td>6.50</td><td>4.02</td><td>31.42</td><td>7.22</td><td>54.26</td><td>6.69</td></r<168µm<>	6.50	4.02	31.42	7.22	54.26	6.69
Grandes R>168um	88.52	6.47	56.28	7.55	20.29	11.16

 Tabla 1.
 Porcentaje de superficie celular ocupado por cada tamaño de NE. SD=Desviación Estándar

3.3. Guiado axonal

Los cultivos fueron teñidos con calceína para evaluar la interacción entre las células y las fibras de fibroína. Las imágenes de fluorescencia de calceína tomadas a 7 y 14 días muestran la presencia de prolongaciones celulares originadas desde las neuroesferas y que transcurren longitudinalmente adheridas a las fibras de fibroína.

Debido al espesor que presentan, se trata de un conjunto de prolongaciones de diferentes células del interior de las neuroesferas asociadas formando haces de fibras terminales que crecen siguiendo la superficie de la fibroína (Figura 4).



Figura 4. Imágenes de microscopía óptica de fluorescencia (A y C) y de transmisión combinada con fluorescencia (B y D) a los 7 días. Barra de escala:100 µm

A los 14 días, se observan mayor cantidad de prolongaciones, que además alcanzan una mayor longitud (Figura 5.C y D), lo que sugiere que la longitud de las terminaciones observadas aumenta conforme se incrementa el tiempo de cultivo, y que su crecimiento parece estar potenciado por la presencia de otras neuroesferas cercanas sobre la fibra. Por otro lado, tanto en las imágenes de 7 días como las de 14 días, es posible diferenciar dos tipos de terminaciones celulares: de diámetro muy fino (Figura 5.C y D); y otras de mayor grosor, observadas en las imágenes como una capa fluorescente que recubre toda la superficie lateral de las fibras de fibroína (Figura 5.A y B).



Figura 5. Imágenes de microscopía óptica de fluorescencia (A y C) y de transmisión combinada con fluorescencia (B y D) a los 14 días. Barra de escala: A-B: 50 μm; C-D: 100 μm.

El diámetro de los dos tipos de prolongaciones fue promediado y representado en la Figura 6.A. También se cuantificó el número de prolongaciones identificadas en los cultivos (Figura 6.B), concluyendo que el número de prolongaciones aumenta de forma significativa entre los 7 y 14 días (p<0.01). El número de prolongaciones finas es significativamente superior al de prolongaciones gruesas tanto a 7 como a 14 días (p<0.001). En cuanto a la longitud de las prolongaciones, los resultados concluyen que se produce un importante crecimiento longitudinal de las prolongaciones entre 7 y 14 días (p<0.01), siendo la longitud máxima promedio detectada en imágenes de 7 días de 416.9 μ m, frente a un valor de 858.8 μ m de longitud, a 14 días.



Figura 6.A) Diámetro de las prolongaciones finas y gruesas identificadas sobre la fibroína. B) Número de prolongaciones celulares cuantificadas por cultivo. N=14.

Se realizaron ensayos de inmunofluorescencia para distinguir entre neuronas (beta-III-Tubulina+) y astrocitos (GFAP+), además del marcador nuclear Hoechst. Estas imágenes permiten afirmar que el diámetro de las prolongaciones depende de su composición celular. Las prolongaciones finas observadas son neuronas y carecen de núcleos, por lo que la hipótesis más probable es que se trate de axones (Figura 7.A-D). Las prolongaciones de diámetro grueso están formadas por neuronas y astrocitos, y sobre ellas se puede observar la presencia de núcleos (Figura 7.E-H).



Figura 7.Imágenes de inmunofluorescencia de cultivos teñidos con anti-β-III-Tubulina (verde), anti-GFAP (rojo) y Hoechst (violeta). Barra de escala: 100 μm.

3.4. Migración celular

En ensayos observados a los 14 días es posible identificar un fenómeno de migración celular, por el cual células procedentes de las neuroesferas se desvinculan de las mismas y viajan a través de la superficie de la fibroína (Figura 8).



Figura 8.Imágenes de microscopía óptica de fluorescencia (A, C) y de transmisión combinada con fluorescencia (B, D) a los 14 días. Barra de escala: 100 μm.

Las imágenes de inmunofluorescencia (Figura 9) permiten determinar que dichas células son neuronas (β -III-Tubulina+). El marcaje nuclear Hoechst (violeta) confirma que se trata de células individuales, que han migrado a partir del interior de una neuroesfera cercana a través de la fibra de fibroína. Además, en la imágenes de tinción Hoechst (Figura 9.C y F) se puede apreciar la presencia de gran cantidad de núcleos localizados sobre la región de la fibra que presenta una prolongación de componente mixta (fluorescente tanto en la imagen verde como en la roja). Se plantea, por tanto, la hipótesis de que las prolongaciones gruesas favorezcan la migración de neuronas desde las neuroesferas hacia el resto de la fibra de fibroína.



Figura 9.Imágenes de inmunofluorescencia de cultivos teñidos con anti-β-III-Tubulina (verde), anti-GFAP (rojo) y Hoechst (violeta). Barra de escala: 100 μm.

4. Conclusiones

La fibroína en forma de fibras ha demostrado ser un biomaterial citocompatible que favorece la migración celular y que presenta un extraordinario fenómeno de guiado axonal, promoviendo el crecimiento de prolongaciones celulares desde las neuroesferas adheridas, que se prolongan siguiendo la dirección de las fibras del biomaterial. Esta conclusión es especialmente relevante dada la importancia de la consecución de un correcto guiado axonal en futuras aplicaciones de regeneración nerviosa.

Por otro lado, las fibras de fibroína ejercen un importante efecto modulador sobre la distribución y tamaño de las neuroesferas, siendo la densidad de fibras del scaffold un factor de gran influencia sobre el fenómeno de promoción del guiado axonal, y un elemento a tener muy en cuenta en el futuro diseño de dispositivos para trasplante que lleven fibras de fibroína en su interior.

En definitiva, la fibroína se constituye como un biomaterial idóneo para su aplicación en dispositivos implantables para tratamientos neurorregenerativos, gracias a su adecuada biocompatibilidad, elevado grado de interacción con las células y el extraordinario fenómeno de guiado axonal que producen sus fibras.

Referencias

- [1] WHO. (2006). *Neurological disorders*. Geneva: World Health Organization.
- [2] Vepari, C., & Kaplan, D. (2007). Silk as a biomaterial. Progress In Polymer Science, 32(8-9), 991-1007. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.013
- [3] Enomoto, S., Sumi, M., Kajimoto, K., Nakazawa, Y., Takahashi, R., & Takabayashi, C. et al. (2010). Long-term patency of small-diameter vascular graft made from fibroin, a silk-based biodegradable material. *Journal Of Vascular Surgery*, 51(1), 155-164. doi: 10.1016/j.jvs.2009.09.005
- [4] Madurga, R. (2015). Development of a new biomimetic approach for the spinning of regenerated silkworm silk fibers (tesis doctoral). Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.
- [5] Brewer, G., Torricelli, J., Evege, E. and Price, P. (1993). Optimized survival of hippocampal neurons in B27supplemented neurobasal, a new serum-free medium combination. *Journal of Neuroscience Research*, 35(5), pp.567-576.
- [6] Brewer, G. (1995). Serum-free B27/neurobasal medium supports differentiated growth of neurons from the striatum, substantia nigra, septum, cerebral cortex, cerebellum, and dentate gyrus. *Journal Of Neuroscience Research*, 42(5), 674-683. doi: 10.1002/jnr.490420510
- [7] Choi, Y., Park, J., & Lee, S. (2013). Size-controllable networked neurospheres as a 3D neuronal tissue model for Alzheimer's disease studies. *Biomaterials*, 34(12), 2938-2946. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.01.038

Desarrollo de un microentorno mamario *in vitro* para el crecimiento de células tumorales como modelo de cáncer de mama en dispositivos microfluídicos

Laura Zabalza Ortiz de Zárate1 y Oihane Mitxelena-Iribarren1,2

1Tecnun, Universidad de Navarra (UNAV), Donostia, a904820@alumni.unav.es 2CEIT, Universidad de Navarra, Donostia, omitxelena@ceit.es

Resumen

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más frecuente en las mujeres en todo el mundo, y en España es la primera causa de mortalidad por cáncer en la mujer. En este trabajo se han desarrollado hidrogeles con el objetivo de conseguir el microambiente más parecido al tejido en el que se desarrollan las células tumorales del cáncer de mama y así ver cómo responden ante distintas terapias. Para ello, se han fabricado dos tipos de hidrogeles de base de ácido hialurónico y de base de polvo de péptido, respectivamente. Tras su caracterización, se ha insertado el hidrogel de base de polvo de péptido en los dispositivos microfluídicos ya que ha resultado tener unas características similares al del tejido del tumor mamario. Para imitar dicho tejido de la manera más precisa posible, se han introducido células de una línea celular humana del cáncer de mama (MCF7) y se ha observado su proliferación. De esta manera, se ha obtenido que la tecnología propuesta permite el uso de dispositivos microfluídicos, en un entorno controlado y con una reducción de reactivos.

1. Introducción

El organismo humano está formado por un conjunto de células que se dividen periódicamente de forma regular. Especialmente lo hacen las células hematopoyéticas, epiteliales y blastos de tejidos conectivos. La finalidad de estas es reemplazar a las ya envejecidas o muertas y mantener así el correcto funcionamiento del organismo completo.

Este proceso de división celular está regulado por determinados mecanismos de control que dirigen en cierta manera a las células, dándoles paso a dividirse cuando sea necesario o a no hacerlo cuando han de mantenerse estáticas. Cuando se produce un daño en el ADN que afecta a los genes del control del ciclo celular estos pueden ser reparados o bien la célula sufrir apoptosis, que es el suicidio celular programado. Si fallan estos sistemas de control, la célula comienza a dividirse de manera incontrolada, generando un tumor.

Cuando las células del tumor tienen un crecimiento lento y no diseminan y no filtran los tejidos vecinos, se habla de tumores benignos. Al contrario, cuando crecen sin control y adquieren capacidad de invasión a tejidos y órganos próximos, pudiendo trasladarse y proliferar a diferentes partes del cuerpo, se habla de tumores malignos, lo comúnmente denominado cáncer.

Existen muchos tipos de cáncer, y los casos nuevos debido a esta enfermedad aumentan en la población

mundial cada año. Según estudios realizados, 18,1 millones de casos nuevos se han dado a lo largo del año 2018 [1]. Entre estos los más abundantes son el cáncer de mama, el de colon y el de pulmón. En concreto, a nivel mundial el cáncer de mama se sitúa en segundo lugar en incidencia en España por encima del cáncer de próstata con 32.825 casos nuevos en 2018. Se estima que la mortalidad del cáncer de mama supone un 6,6% con respecto a los demás cánceres a nivel mundial.

La investigación en el cáncer ha aumentado en un 20% la supervivencia en los últimos 20 años. Esta mejora en los resultados proviene del desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico precoz y tratamientos más específicos y eficaces [1]. Para llevar eso a cabo, se realizan numerosos estudios a nivel mundial.

Con el fin de conseguir el ecosistema más similar al de un tejido humano, se hacen uso de diferentes líneas celulares y, actualmente, cada vez son más los que optan por el uso de hidrogeles ya que son capaces de recrear el microambiente en 3D lo más parecido de cómo se encuentran las células en el cuerpo, como lo es en este caso, las células del cáncer de mama. Aunque son muchos los biomateriales probados, los hidrogeles son idóneos ya que pueden adquirir propiedades mecánicas similares a las del tejido blando, y poseer una buena adhesión celular y separación de proteínas.

Teniendo estos datos en cuenta, se definen los objetivos principales de este trabajo, que consisten, por un lado, en la fabricación de unos hidrogeles que imiten de manera más parecida el tejido del cáncer de mama; y por otro lado, en la fabricación de dispositivos microfluídicos donde poder insertar estos hidrogeles y testear distintos medicamentos contra esta enfermedad. Para ello, se han realizado diferentes ensayos para caracterizar mecánicamente estos hidrogeles y la viabilidad celular de las células mamrias en ese microambiente.

2. Materiales y métodos

2.1. Fabricación de hidrogeles con base Me-HA

La fabricación de los geles se ha llevado a cabo con ácido hialurónico y metacrilato (HA-Me) fabricado siguiendo el protocolo de Yushan Kim (University of California Berkeley). Dicho protocolo trata, resumidamente, en disolver el ácido hialurónico (HA) en agua desionizada y ajustar el pH a más de 8 con la adición de NaOH. Tras este ajuste, se añade anhídrido metacrílico. Posteriormente se ajustan los parámetros deseados de la mezcla y se procede a la liofilización de la disolución final para obtener el polvo de Me-HA. Tras seguir las pautas marcadas, el polvo de Me-HA liofilizado debe ser conservado a -20°C.

Para la formación del hidrogel con el Me-HA previamente fabricado, se ha usado el medio celular DMEM (Life Technologies) y un agente de entrecruzamiento comercial, DTT (Sigma Aldrich). Esta mezcla se ha realizado con una cantidad de medio que oscilaba entre 50 μ L y 2mL, con cantidades de Me-HA entre 0,064 mg y 40 mg y DTT entre 0,0064 mg y 0,025 mg, siguiendo las pautas encontradas en la literatura[2].

Posteriormente, para la adecuada formación del hidrogel, se ha dejado reposar la mezcla durante 24h a diferentes temperaturas: temperatura ambiente, 4°C y 37°C.

2.2. Fabricación de hidrogeles con base de polvo de péptido

Mediante la mezcla de la base de polvo de péptido comercial (Biogelx), junto con agua estéril se ha conseguido el 'Pre-gel' y mezclándolo con medio se ha obtenido el hidrogel.

Para ello, y con el objetivo de alcanzar el rango adecuado de rigidez del tejido del cáncer de mama [3], se han realizado distintas mezclas del polvo de base peptídica junto con agua desionizada. El rango de cantidad del polvo de base peptídica usado ha sido entre 4 y 6,5 mg, cada una de las cuales han sido disueltas en 500µL de agua. Una vez realizadas las mezclas, se han dejado a 4°C para la correcta formación del Pre-Gel.

Tras 24 horas, se han repartido las mezclas en una placa de 96 pocillos, insertando 100 μ L de Pre-Gel en cada uno de dichos pocillos. Así, tras su incubación de 15 minutos a 37°C, se ha introducido medio DMEM en cada uno de los pocillos, concretamente, 150 μ L por cada uno.

Finalmente, se ha dejado la placa de pocillos incubando a 37°C durante 24 horas y se ha analizado el resultado.

Todos los hidrogeles fabricados han sido caracterizados haciendo uso del reómetro AntonPaar, con el software informático RheoPlus.

2.3. Fabricación de dispositivos microfluídicos

Los hidrogeles mencionados en el apartado anterior han sido fabricados para su posterior inserción en dispositivos microfluídicos. Dichos dispositivos se han fabricado mediante el proceso *replica molding (casting)* descrito anteriormente en la literatura[4].

Para insertar los hidrogeles en el interior de los dispositivos microfluídicos se han llevado a cabo distintas estrategias que han consistido principalmente en, por un lado, formar el hidrogel en el exterior del dispositivo y luego insertarlo; y, por otro lado, insertar todos los componentes en el interior de la cámara microfluídica y dejar que el gel se formara directamente en el interior de esta (Figura 1).



Figura 1. Inserción del gel en el dispositivo microfluídico.

2.4. Cultivos celulares

En este proyecto se ha utilizado la línea celular de cáncer de mama MCF-7, donada por el grupo de investigación de la Doctora María Vivanco del CIC bioGUNE. Los cultivos celulares se han realizado utilizando medio DMEM (LifeTechnologies, UK) con un 10% (v/v) de suero fetal bovino (FBS, LifeTechnologies, UK) y un 1% de PenStrep (Gibco, UK) a 37°C en una atmósfera humidificada que contenía un 5% de CO₂.

Tras la formación de los hidrogeles, se ha insertado el medio con células en los mismos, con una concentración de 115.000 células/cm2. Con el fin de analizar la viabilidad celular se ha empleado la técnica del TrypanBlue. Dicha prueba se ha realizado en dos puntos temporales: un día después de haber sembrado las células en el hidrogel y tres días después. Los resultados se han visualizado con la cámara Nikon Eclipse TS100.

3. Resultados y discusión

3.1. Fabricación y caracterización de hidrogeles Me-HA

Tal y como se ha mencionado anteriormente, para la formación de geles de Me-HA se ha contado con unos polvos liofilizados de este compuesto, previamente fabricado en el grupo de investigación. Dado que para la formación del gel es necesaria la adición de DTT, este proceso se ha realizado de tres maneras diferentes, analizando el efecto que tiene la temperatura sobre la formación del hidrogel.

Primero, se ha realizado la prueba viendo resultados tras el reposo a temperatura ambiente. Al utilizar 50 μ L de DMEM junto con diferentes cantidades de DTT [2] y polvo de Me-HA y dejarlo en reposo durante 24 horas, se ha obtenido que el hidrogel no se había formado favorablemente, ya que las 5 muestras preparadas se habían secado. Por eso mismo, sabiendo el interés de las prácticas de llegar a conseguir un hidrogel con propiedades semejantes al del cáncer de mama, se ha descartado esta opción.

Posteriormente, se ha realizado una segunda prueba. En esta ocasión, como posible alternativa y teniendo en cuenta las proporciones usadas en los hidrogeles realizados en otros estudios [2], se ha seguido el mismo procedimiento que el anterior, a excepción de que primero se ha mezclado el Me-HA y el DMEM dejándolo a 4°C durante 24 horas (antes usar el DTT) y se ha concluido que los pocillos con mayor cantidad de Me-HA tardan menos en adquirir mayor densidad.

Tras dejar en reposo las 24 horas mencionadas, se ha observado que los que tienen mayor concentración de

Me-HA presentan algo más de viscosidad y no tienen una apariencia tan líquida. Además, han cambiado su color pasando de un color rosáceo fuerte a uno más claro. Sin embargo, no sirven para poder cultivar células y adquirir el hidrogel deseado, ya que no se ve una mezcla homogénea, estando esta acumulada por zonas. Es por ello, que esta alternativa obtenida también ha sido descartada para llevarla a cabo en los dispositivos microfluídicos.

Finalmente, se ha realizado una última prueba para el posible uso de Me-HA para la formación de los hidrogeles. En esta ocasión, se ha llevado a cabo el mismo procedimiento que para la prueba anterior solo que dejando reposar a 37°C las disoluciones preparadas. El resultado obtenido en este caso ha sido similar al anterior (Figura 2).



Figura 2. Hidrogeles de Me-HA tras 24h a 37°C.

Como se puede observar, en vez de apreciarse una mezcla homogénea, tras el reposo de 24h a 37°C, el DTT y el Me-HA ha tendido a no disolverse bien y no formar parte de la parte homogénea junto con el medio. Este resultado no es óptimo para el hidrogel requerido, por lo que esta técnica también ha sido descartada.

Tras la realización las tres pruebas a distintas temperaturas, se concluye que no se ha formado un hidrogel como tal en ninguno de los casos. Aunque en un principio ha parecido que las mezclas adquirían consistencia y eran homogéneas, a medida que ha pasado el tiempo se han ido formando aglomeraciones o se han secado completamente las mezclas. Por tanto, al no tener como resultado el hidrogel, no se han podido caracterizar ninguno de los ensayos en el reómetro ni sembrar células en ellas.

3.2. Fabricación y caracterización de hidrogeles con base peptídica

Tras el protocolo desarrollado y explicado en apartados anteriores, se han preparado hidrogeles con base peptídica satisfactoriamente, obteniendo una mezcla transparente y homogénea, con textura de gel (Figura 3).



Figura 3. Hidrogel de base peptídica.

Tras 24 horas de incubación con las células MCF-7, las células han sobrevivido en dicha superficie según lo observado en el microscopio (Figura 4). En cada uno de los pocillos de la placa donde han sido sembradas las células se ve crecimiento. Además, al enfocar se puede

ver que realmente las células se han quedado en la superficie del hidrogel, que es lo que debían hacer al tratarse de células adherentes.



Figura 4. Crecimiento celular de MCF7 en hidrogeles.

Sin embargo, para cuantificar la viabilidad celular en los hidrogeles fabricados, se ha empleado el tinte Trypan Blue. Mediante este método, las células viables, con membrana intacta, no incorporan el azul de tripano; por el contrario, sí atraviesa la membrana de las células muertas. Por lo tanto, las células muertas se muestran de un distintivo color azul bajo el microscopio.

Como se puede observar en la Tabla 1, las células tras las primeras 24h parece que se han adherido bien a la superficie del propio hidrogel y que están vivas. Cierto es que en el que tiene la cantidad de 6,5mg se puede observar cierto aglutinamiento del Trypan Blue. Esto se debe a que el gel no estaba homogéneo antes de sembrar las células, había sido dañado. Así pues, tras 72h, las células siguen creciendo y siguen vivas ya que no se ven manchas azules oscuras con el microscopio. Es posible que, como es apreciable a la derecha de las imágenes, pueda haber alguna célula muerta, ya que se ven manchas de azul más intenso. Sin embargo, la prueba de Trypan Blue permite afirmar que las células MCF7 han sobrevivido en el hidrogel de base peptídica (Tabla 1).

 Tabla 1. Representación de las imágenes obtenidas tras la realización de la prueba de Trypan Blue en función de la cantidad de base de péptido y del tiempo de incubación.



Por otra parte, para poder caracterizar mecánicamente los hidrogeles fabricados, se ha hecho uso del reómetro AntonPaar.

En la Tabla 2 se representan los valores de módulo elástico obtenidos según los miligramos de polvo de péptido que se usaron a la hora de preparar el Pre-gel.

 Tabla 2. Representación de los valores medios de lo módulos elásticos obtenidos tras medir con el reómetro.

[mg]	G' [Pa]
5	101,15
5,5	153,29

Analizando los resultados obtenidos, el módulo aumenta a medida que aumenta la concentración de base de péptido. Estos valores se corresponden a los valores del tejido del cáncer de mama descritos anteriormente en la literatura, los cuales rondan los 4-23kPa [3]. Las cantidades usadas de base de péptido fueron elegidas de tal manera que se esperaba entrar en ese rango al obtener el hidrogel final. Además, se escogieron las cantidades mayores que se tenían de hidrogel para que el resultado que diese la caracterización mecánica del hidrogel fuese lo más precisa posible. En este caso, los valores medidos por el reómetro sí se han acercado a esas estimaciones.

3.3. Inserción de hidrogel en dispositivos microfluídicos

Como ha sido mencionado en apartados anteriores, se han insertado los hidrogeles en los dispositivos microfluídicos para determinar si eran capaces de quedarse en la cámara de las plataformas.

Para ello, primero se han insertado 5μ L de medio y se ha observado a microscopio el resultado (Figura 5). El líquido que contiene la cámara, el medio, aparenta ser transparente.



Figura 5. Inserción de medio DMEM en el dispositivo microfluídico.

Posteriormente, se ha llevado a cabo el mismo procedimiento, pero en esta ocasión ha sido el Pre-gel lo que se ha introducido en el dispositivo (Figura 6). Tras su inserción, se han añadido los 5μ L de medio necesarios para promover la formación del gel en el interior de la cámara microfluídica. Sin embargo, al insertar el medio, el Pre-gel se ha desplazado en el dispositivo, saliendo por los orificios de entrada y salida. Debido a este desplazamiento, no se ha permitido la formación del gel en el interior de la plataforma.



Figura 6. Inserción de Pre-gel en el dispositivo microfluídico.

Al obtener estos resultados, se ha optado por otra alternativa que ha consistido enformar primero el hidrogel en el exterior de la plataforma. Para ello, se han mezclado en un Eppendorf 5μ L de medio junto con otros 5μ L de Pre-gel. Una vez formado el hidrogel, se ha introducido en el dispositivo microfluídico (Figura 7).



Figura 7. Hidrogel en el interior del dispositivo microfluídico.

Como se puede observar, se ha conseguido introducir el hidrogel en el dispositivo microfluídico, conservando la misma consistencia del gel observado en los pocillos en las primeras pruebas. Además, se obtiene que el hidrogel formado y adherido a la superficie del interior de la plataforma microfluídica, lo hace de manera similar que en la formación del hidrogel en los pocillos (Figura 3). Este hecho demuestra que se podrían hacer estudios del microentorno celular del cáncer de mama mediante el uso de dispositivos microfluídicos, en un entorno controlado y con una reducción de reactivos.

4. CONCLUSIONES

Con este trabajo se ha conseguido fabricar y caracterizar hidrogeles de base peptídica que imitan la rigidez del entorno del cáncer de mama. Además, estos hidrogeles han demostrado ser biocompatibles con el cultivo de las células mamarias, asegurando que son un buen sustrato para analizar el comportamiento de esta enfermedad ante nuevos tratamientos. Finalmente, estos hidrogeles han sido insertados en plataformas microfluídicas, con las que se reducen los reactivos necesarios para el testeo de fármacos.

Referencias

- [1] AECC, "Datos del cáncer de Mama," 2018.
- [2] M. Lin and J. Z. Yu, "Dithiothreitol (DTT) concentration effect and its implications on the applicability of DTT assay to evaluate the oxidative potential of atmospheric aerosol samples," *Environ. Pollut.*, vol. 251, pp. 938–944, Aug. 2019.
- [3] A. Suo, W. Xu, Y. Wang, T. Sun, L. Ji, and J. Qian, "Dual-degradable and injectable hyaluronic acid hydrogel mimicking extracellular matrix for 3D culture of breast cancer MCF-7 cells," *Carbohydr. Polym.*, vol. 211, pp. 336–348, May 2019.
- [4] O. Mitxelena-Iribarren et al., "Effectiveness of nanoencapsulated methotrexate against osteosarcoma cells: in vitro cytotoxicity under dynamic conditions," *Biomed. Microdevices*, vol. 19, no. 2, Jun. 2017.

Desarrollo de tecnologías de micromecanizado para el sector point of care de diagnóstico

Markel Gómez Sainz^{1,2}, Patxi Aristimuño¹, Florian Laouenan², Diana Enériz², Unai Ayala Fernández¹

¹Ingeniería Biomédica, Mondragon Unibertsitatea, Mondragón, España, markel.gomez@alumni.mondragon.edu ²Ingeniería, microLIQUID S.L., Mondragón, España, <u>info@microliquid.com</u>

Resumen

La empresa microLIQUID, se dedica al diseño, desarrollo y fabricación de productos microfluídicos (lab-on-a-chip) para el ámbito del diagnóstico sanitario, veterinario y agroalimentario. Actualmente existen diferentes técnicas de prototipado que no son industrializables porque no utilizan el material final, o las técnicas de fabricación modifican los comportamientos superficiales, que en el ámbito biomédico son clave para el correcto funcionamiento de los sistemas de diagnóstico/análisis. Con el fin de dar respuesta a esta necesidad, se ha realizado este Trabajo Fin de Grado de ingeniería biomédica.

Este proyecto consiste en el análisis y desarrollo de las técnicas de micromecanizado y termoconformado donde se han analizado los requerimientos necesarios para piezas microfluídicas, planteando diferentes diseños y estrategias de fabricación que dan solución a las necesidades de los productos que fabrica la empresa.

1. Introducción

En la actualidad, el sector microfluídico está ganando fama y relevancia debido a la utilidad y las ventajas que proporciona el empleo de una cantidad mínima y suficiente de fluido. Dentro de este campo, los dispositivos que están ganando cada vez más importancia son los conocidos como lab-on-a-chip (LOC). Este tipo de equipamiento se compone de varias partes y ejecuta una serie de fases u operaciones características de un laboratorio empleando una mínima cantidad de muestra [1], un bajo coste y un tiempo reducido. El dispositivo típico en el ámbito microfluídico, se compone de una serie de entrada/s, salida/s y canal/es, por los cuales la muestra debe fluir. En el caso de estos dispositivos, la muestra recorre un camino corto, atravesando un sistema de microcanales, que pueden presentar tratamientos superficiales, en los cuales los procesos se aceleran acortando los tiempos de respuesta y ejecución. En la actualidad, empleando tecnologías de fabricación como la estereolitografía, el hot-embossing y el moldeo por inyección [2], junto con métodos de ensamblaje y pegado, se pueden crear sistemas híbridos que incorporan la arquitectura LOC en conjunción con elementos biológicos. Estos pueden ser proteínas e incluso cultivos celulares, que usándolos en conjunto con estructuras LOC, se reproduce un ecosistema fisiológico en un dispositivo (Organ-on-a-chip).

La empresa MicroLIQUID, está en el mundo de la fabricación y comercialización de productos LOC [3] para el ámbito del diagnóstico sanitario, veterinario y agroalimentario. Una de las claves del mercado es reducir el tiempo transcurrido desde la llegada de un proyecto a su prototipado y posterior fabricación en serie. Esta cuestión, es una variable clave para poder ofrecer una mayor competitividad a los clientes y poder poner a disposición paciente/usuario herramientas del estas de diagnóstico/análisis en un tiempo lo más breve posible. Actualmente, existen unos tiempos a mercado cercanos a los 24 meses, y mediante diferentes técnicas de prototipado la empresa pretende reducir estos tiempos, ya que se requieren numerosas iteraciones en el desarrollo de los nuevos productos. En este momento, existen diferentes técnicas de prototipado que no son industrializables porque no utilizan el material final [4], son poco versátiles, no permiten trabajar con múltiples materiales, no tienen alta precisión, o las técnicas de fabricación modifican los comportamientos superficiales, que en el ámbito biomédico son clave para el correcto funcionamiento de los sistemas de diagnóstico/análisis.

Aun disponiendo de una amplia variedad de tecnologías de fabricación, el micromecanizado se presenta como una tecnología prometedora para realizar prototipado y series cortas. Guckenberger et al. establecen que la relación coste-tiempo es la menor comparada al resto de tecnologías de microfabricación [5]. A su vez, se pueden trabajar una amplia gama de materiale, incluyendo aceros templados, y la rugosidad superficial máxima que se obtiene es de entre 0.4 y 2 µm. Observando el potencial de la tecnología, se pretende realizar un análisis del uso y obtención de prototipos para aplicaciones específicas usando el micromecanizado. Tras realizar un análisis del estado del arte, se han observado carencias y se han propuesto soluciones a estos [7]. Una de estas carencias es la obtención de piezas con redes de microcanales internos obtenidos mediante micromecanizado. En estos casos, el proceso de fabricación más común es la estereolitografía, que a diferencia del micromecanizado, es una técnica de fabricación aditiva. Otra de las carencias identificadas, es la dificultad de obtención de moldes duraderos que puedan

emplearse para termoconformado de estructuras microfluídicas, a un coste reducido y que permita realizar una gran cantidad de estampaciones [8]. Dicho esto, se plantea fabricar un molde mediante micromecanizado para su posterior uso en termoconformado obteniendo estructuras microfluídicas en un material polimérico. Por último, se presentan tres casos que dificultan el montaje y comprobación de dispositivos microfluídicos: la dificultad para alinear chips en el montaje de cartuchos, las necesidades de disponer de un encapsulado que posibilite insertar reactivos de manera externa y de alojar chip para realizar pruebas de mezclado.

El objetivo de este proyecto se centra en el análisis del micromecanizado y la adaptación de esta tecnología combinada con el termoconformado para la fabricación de prototipos del ámbito microfluídico que den solución a las carencias establecidas previamente.

2. Métodos

Una de las claves para solucionar las carencias identificadas, es la selección del material más adecuado para cada posible aplicación. Tras realizar el análisis de los materiales más comunes en el ámbito de las microtecnologías y de la microfluídica, se ha procedido a hacer un análisis a nivel de propiedades para realizar una selección en función de la aplicación deseada.

A nivel de polímeros se han analizado el metacrilato (PMMA), el polipropileno y el policarbonato. Como posibles candidatos para la fabricación del molde, se han analizado el aluminio y el acero inoxidable. Una vez analizados, y observado las propiedades de cada uno, se han seleccionado el PMMA para las aplicaciones de encapsulado, manifold y herramientas de laboratorio, y el aluminio para el caso de los moldes. Esto se debe a que PMMA es un material ópticamente transparente e inerte, lo que permite ver el paso de reactivo a través del dispositivo y no reaccionar frente a dichos reactivos. La selección del material metálico está condicionada por el número de piezas a fabricar a futuro. Para el caso de un prototipo de reducido uso, se ha empleado el aluminio, debido a que presenta unas condiciones óptimas de mecanizado (Tabla 1.).

	Módulo	Temperatura	Dureza
	Young	de fusión	Vickers
Aluminio 6082	69.5 GPa	570-660 °C	74-105 HV
Acero	210 GPa	1375-	130-570
Inox. 304		1450°С	HV

 Tabla 1. Propiedades mecánicas de los materiales estudiados para el mecanizado de moldes.

Los prototipos por fabricar se han diseñado utilizando los softwares de diseño CAD/CAM SolidWorks y Siemens NX 11.0. Una vez establecidos los diseños, se ha procedido a la fabricación de cada prototipo en el centro de micromecanizado Kern Evo. Para el caso del manifold con microcanales internos, se ha establecido un protocolo de microtaladrado ante la dificultad que este proceso implica debido a la posibilidad de que la broca puede flectar, entrar en diagonal y fracturar la pieza. En el caso de las estructuras microfluídicas para termoconformado, se han fabricado las estructuras en una oblea de aluminio usando el proceso de micromecanizado. Una vez caracterizadas las estructuras mediante técnicas de perfilometría, se ha empleado una máquina de Hot-embossing EVG 510 para estampar las microestructuras en un material polimérico. Por último, en el caso de las herramientas para alineamiento y montaje de chips, se ha necesitado conocer de antemano la función del dispositivo microfluídico para poder dar acceso al usuario desde el exterior al entorno microfluídico y las posibles restricciones o limitaciones a nivel de diseño.

3. Resultados

Para analizar la viabilidad del micromecanizado en la obtención de dispositivos con microcanales internos, se han desarrollado y fabricado dos manifold funcionales, uno para finalidad neumática y otro para una fluídica. Los dispositivos han sido fabricados en PMMA, y se ha realizado el ensamblaje implementando conectores y tubos fluídicos y válvulas de solenoide de 2 y 3 vías. Realizando el accionamiento de las válvulas, se ha observado que se puede controlar el dispensado de fluido selectivamente. El resultado obtenido se observa en la Figura 1.



Figura 1. Manifold conectado a PCB

El uso del micromecanizado, concretamente el microtaladrado, posibilita la obtención de estos dispositivos hasta tal punto. Dicho punto viene limitado por la longitud de la microbroca (20-60 mm) y el diámetro de esta (0.5-0.8 mm). Una de las mayores limitaciones es que al tratarse de brocas tan esbeltas y largas, al usar altas revoluciones, la broca tiende a flectar por lo que la entrada

de esta puede darse en diagonal, y de este modo fracturar la broca.

Para dar solución a la carencia de fabricación de un molde duradero se ha fabricado un molde con estructuras microfluídicas en aluminio. Una vez obtenidas las estructuras, se ha realizado el replicado mediante termoconformado en un material polimérico. Con el proceso de hot-embossing, se pueden replicar con éxito y fiabilidad características complejas, pudiendo realizar impresiones en materiales poliméricos con una profundidad que va desde 200 μ m hasta 1 μ m, con un buen control dimensional. En la Figura 2 se muestra el esquema empleado para la obtención de las estructuras en material polimérico.



Figura 2. Esquema del proceso de replicado en polímero

Tras fabricar las estructuras en el molde, se ha procedido a caracterizar la altura de las estructuras mecanizadas (Tabla 2). Las medidas de perfilometría se han realizado en tres puntos (A, B y C) a lo largo de cada canal. Las variaciones entre los tres puntos de un mismo canal están comprendidas entre $\pm 2 \ \mu m$ (valor de tolerancia dado por el proprio fabricante del centro de micromecanizado) con respecto al valor teórico. Se puede resaltar también que las estructuras del molde no han sufrido daño alguno durante el estampado.

Por otro lado, se han observado ciertos aspectos a mejorar/corregir, por ejemplo, el ángulo recto a la entrada del microcanal produce el fenómeno denominado "necking" e incluso obstrucción del canal, como se muestra en la Figura 3. Dicho esto, se ha realizado un nuevo diseño de las estructuras microfluídicas y se ha realizado el replicado una segunda vez. El nuevo diseño dispone de una transición radial en lugar de presentar un ángulo recto, facilitando de este modo la fabricación de las estructuras.

Altura de canal (µm)	Medida teórica	Medida obtenida		
		А	В	С
Canal 1	188	186	187	186
Canal 2	188	189	188	187
Canal 3	188	188	190	186
Canal 4	188	188	188	186
Canal 5	188	190	190	189

Tabla 2. Resultados obtenidos del micromecanizado.



Figura 3. Fenómeno necking (derecha) y corrección de dicho fenómeno (izquierda).

Con las nuevas correcciones, las estructuras microfluídicas se han obtenido correctamente. Como pasos finales, se ha realizado el corte de la oblea replicada, y se ha procedido a montar los chips para comprobar la obtención de los microcanales correctamente. Por último, se han fabricado unos encapsulados funcionales para alojar chips fabricados en PMMA (véase la Figura 1). Dependiendo de la funcionalidad del chip, y teniendo en cuenta los requisitos a nivel de microfluidica, el encapsulado dispondrá de ciertas características (entradas y salidas, tubos capilares, conexiones, ventanas para posterior análisis con óptica...). Por otro lado, se ha desarrollado una solución óptima y funcional para realizar el alineamiento de los diferentes componentes de un cartucho, basado en la implementación de pines que ejercerán de guías para montar los distintos componentes del cartucho.

4. Discusión

El sector de la microfluidica es reciente y está en constante desarrollo. Actualmente, muchas de las empresas centradas en el ámbito de la microfluídica realizan subcontrataciones a proveedores que les puedan realizar ciertos procesos de fabricación. El micromecanizado ha irrumpido como una tecnología de prototipado fiable, rápida y adaptable a otro tipo de tecnologías, como por ejemplo la fabricación de moldes para el posterior uso en termoconformado. Dicho esto, el tener la posibilidad de fabricar sus propios dispositivos te permite acortar tiempo y a su vez verificar su funcionamiento in situ en el laboratorio. Por otro lado, actualmente no hay empresas combinando la fabricación de moldes, su viabilidad a nivel de fabricación de estructuras microfluídicas y a su vez, su correcta funcionalidad a través de experimentos. Por lo que disponer de dicho conocimiento a nivel de empresa proporciona un valor añadido.

Durante el proyecto, se han valorado tres aplicaciones diferentes. A nivel de encapsulados, el uso del micromecanizado ha posibilitado fabricar unos dispositivos de calidad y fácilmente adaptables a distintos diseños microfluídicos. Estos conjuntos han resultado muy útiles a nivel de laboratorio. Por un lado, se ha conseguido solucionar la dificultad para alinear chip con cartuchos, y de este modo se ha proporcionado rapidez en un proceso de laboratorio que requiere precisión. Por otro lado, los encapsulados para inserción de reactivos de manera externa son útiles, siempre y cuando se asegure que las conexiones no presentan fugas. De este modo, para chips de material rígido se han empleado juntas tóricas, y para chips flexibles se ha empleado presión. Además, asegurando esto último se ha logrado un módulo de mezclado que ha resultado ser funcional y de utilidad para realizar mezclas.

En la actualidad, hay pocas empresas que realicen micromecanizado de estructuras microfluídicas directamente en materiales poliméricos. Además, ciertas empresas fabrican los componentes de un dispositivo microfluídico por módulos y a continuación realizan un ensamblado de módulos. La tecnología de los manifold y el proceso de microtaladrado implementado en este proyecto ofrecen una alternativa de fabricación directa en un único paso. En este caso, la mayor limitación es disponer de brocas lo suficientemente largas y estructuras que no sean excesivamente complicadas.

Por otro lado, el haber podido implementar el proceso completo de fabricación y obtención de las estructuras microfluídicas, demuestra el micromecanizado se puede combinar con un proceso como el termoconformado. Con el proceso de hot-embossing, se ha demostrado que se puede replicar con éxito y fiabilidad características complejas micromecanizadas, pudiendo realizar estampados en materiales poliméricos con una profundidad de centenas de micras. Esto presenta un beneficio frente a tecnologías de estereolitografía que son dependientes del material que se va a emplear y la precisión en las dimensiones no es tan buena como en el micromecanizado

5. Conclusión

Durante este proyecto, se ha realizado un análisis del micromecanizado como tecnología de fabricación enfocada en el sector point of care de diagnóstico, concretamente a nivel de dispositivos microfluídicos. Con este propósito, se ha analizado dicha tecnología en el ámbito de la microfluídica y el alcance de esta para poder fabricar dispositivos funcionales. Se puede establecer que el micromecanizado es una tecnología de fabricación muy versátil, que se puede emplear para varias aplicaciones tal y como la generación de modulos e interfaces microfluidícas, y sobre todo de microestructuras directas e indirecta. Por otro lado, en la relación calidad-coste es una tecnología que permite obtener piezas de alta calidad en poco tiempo.

Agradecimientos

Por último, agradecer a microLIQUID por la oportunidad de trabajar en un proyecto como este y a Mondragon Unibertsitatea por los medios y conocimientos necesarios para llevar a cabo dicho proyecto.

Referencias

- Volpatti LR, Yetisen, AK. Commercialization of microfluidic devices. *Trends in biotechnology*, vol 32, n 7, 2014, pp 347-350.
- [2] Attia UM, Marson S, Alcock JR. Micro-injection moulding of polymer microfluidic devices. *Microfluidics and nanofluidics*, vol 7, n 1, 2009, pp 1.
- [3] Gupta S, et al. Lab-on-chip technology: A review on design trends and future scope in biomedical applications. *Int. J. Bio-Sci. Bio-Technol*, vol 8, 2016, pp 311-322.
- [4] Gale BK, et al. A review of current methods in microfluidic device fabrication and future commercialization prospects. *Inventions*, vol 3, n 3, 2018, pp 60.
- [5] Guckenberger DJ., et al. Micromilling: a method for ultrarapid prototyping of plastic microfluidic devices. *Lab on a Chip*, vol 15, n 11, 2015, pp 2364-2378.
- [6] Li P. Micromilling of hardened tool steels. 2009 (ISBN 9789090246406).
- [7] Ardila LKR, et al. Micro-milling process for manufacturing of microfluidic moulds. En *Proceedings of the 23rd ABCM International Congress of Mechanical Engineering*, Rio de Janeiro, Brazil. 2015.
- [8] Worgull M, et al. Hot embossing of microstructures: characterization of friction during demolding. *Microsystem Technologies*, vol 14, n 6, 2008, pp 767-773.

Design of a Sensing Force Platform to Assess Center of Pressure

J. Cortina Montón, R. Raya López

Escuela Politécnica, Universidad San Pablo CEU, Madrid, España, j.cortina2@usp.ceu.es, rafael.rayalopez@ceu.es

Abstract

There are many conditions, from strokes to cerebral palsy, which require balance rehabilitation. Measurements of the body center of pressure (the point location of the vertical ground reaction force vector which represents a weighted average of all of the pressures applied over the platform) are critical to assess balance stability. Devices which measure the center of pressure can sometimes be expensive and difficult to transport. Our aim was to create a sensing force platform which could easily measure the balance point and, at the same time, be cheap and portable. Additionally, we were able to use the platform, not only to assess the center of pressure, but also to control the mouse, both via cable and Bluetooth. This was used to control a rehabilitation videogame which uses the mouse cursor as a controller. Our conclusions were favorable for both of the platform rehabilitation functionalities: center of pressure assessment and videogame control.

1. Introduction

1.1. Neuromotor Disorders and Balance

Many health conditions, such as strokes, cerebral palsy (CP), multiple sclerosis (MS), or Parkinson's disease (PD) can cause neurotrauma, followed by balance disorders, which become an important focus on rehabilitation efforts [1], as the recovery of a sense of balance is one of the main points to return to normality that can be the difference between going back home and entering long-term care [2]. Being so, an appropriate assessment of balance is essential for diagnosis and rehabilitation therapies [3].

1.2. Assessment of Balance Control in Humans

When it comes to clinical balance assessments there are two main purposes: to identify if there is a balance problem or not (for which functional assessments are used), and to establish the underlying cause of the balance problem (achieved by physiological assessments) [3].

There is also the quantitative assessments approach, which uses computerized systems and wearable inertial sensors and is able to perform the balance testing in a more specific, sensitive and responsive way [3].

Quantitative posturography is an example of this kind of approach. It can be both static (subjects standing as still as possible) or dynamic (external balance perturbations or changing surface and/or visual conditions) [3]. This system represents a gold-standard in the measurements of motor and sensory contributions to balance control; its main drawback is the high cost and time required for testing and training, and the space needed for the equipment [4].

1.3. Center of Pressure (COP)

The most commonly used device for static balance tests is a force platform [5], which measures the center of pressure (COP) [6], defined as the point location of the vertical ground reaction force vector and representing a weighted average of all of the pressures applied over the platform [7]. The COP can be represented as a point obtained from a couple of coordinates on the x and y axes (COPx and COPy) [8].

1.4. Videogame Rehabilitation

Active videogames (AVGs) require body movements, like stepping or swinging arms, which are not performed in classic hand-controlled videogames [9]. Two impactful applications of AVGs, which have a lot of potential are: the promotion of increased daily physical activity for children who have or do not have disabilities, and the engagement and participation increase in physical rehabilitation therapies [10]. Examples can be the Wii Fit gaming system, which has already been proved useful for rehabilitation [8] using it as a force platform, or the Microsoft Kinect, which has also been used in the field of physical rehabilitation [11].

2. Material and Methods

2.1. Load Cells

In order to obtain a weight, we used load cells (a physical element that can translate pressure into an electrical signal [12]), amplifiers to amplify the small signals, a microcontroller (Arduino Micro), and a laptop to visualize the results and build the program. The load cells we used are known as strain gauge load cells. A strain gauge is a mechanical element that measures electrical resistance changes in response to, and proportional of, strain (pressure/force) [12]. The most common strain gauge is made up of foil or very thin wire, which is set up in a grid pattern in a specific way such that a linear change in electrical resistance happens when strain is applied in a certain direction [12]. The strain gauge load cells that we used are called load sensors (see Figure 1).



Figure 1. Load sensor

339

Our load sensor has two resistors inside of approximately 880 ohms, one of which is variable and changes with applied mechanical force (see Figure 2).



Figure 2. Inside of our load cell

In order to measure the small changes in resistance, a Wheatstone bridge is used. A Wheatstone bridge is an electrical circuit configuration made up of four resistors with a known voltage [12].

The output voltage will be a resulting change that can be measured and is obtained with the following equation using Ohm's law [12]:

$$V_{out} = \left(\frac{R3}{R3 + R4} - \frac{R2}{R1 + R2}\right) \times V_{in}$$

If we replace a resistor (or more) in a Wheatstone bridge with a strain gauge (or more), we can measure the change of the output voltage ($V_{out} = INA+ - INA-$), which is caused by the change on the value of the variable resistor inside the sensor that will happen when force is applied to it, and use it to evaluate the force [12].

In order to obtain four different weights, we built four Wheatstone bridges, one with each load sensor (which already has two 0.88K resistors) and two 1K resistors (see Figure 3).



Figure 3. Wheatstone bridge formation with one load sensor

After this, in order to amplify the very small electrical changes produced when applying force to the load sensors, each Wheatstone bridge was connected to an amplifier (the HX711 load cell amplifier). All of them were then connected to the same Arduino Micro in order to process the signals, and the Arduino Micro to a laptop, to program and visualize the results.

We made small changes to a code from the SparkFun webpage resources [13], in order to calibrate the sensors. Then, we updated another code from the SparkFun webpage resources [13], which was just for one sensor, so that the weight of four sensors could be detected. We also created four variables: TR (top right), TL (top left), BR (bottom right) and BL (bottom left) (the names according to the places where the sensors should be placed in the sensing platform), to store the values of the sensors, and another two variables: COPx and COPy, that measure body sway in the side to side and front to back directions, respectively, based on downward force sensor data generated at each corner of the platform [8] (representing the couple of coordinates that mark the point where the center of pressure (COP) is located), which are a function of the previous four variables in the same way the Wii Fit system does [8], changing only the scaling factor (15):

$$COPx = 15 \times \left[\frac{(TR + BR) - (TL + BL)}{(TL + TR + BL + BR)} \right]$$
$$COPy = 15 \times \left[\frac{(TL + TR) - (BL + BR)}{(TL + TR + BL + BR)} \right]$$

In the case of COPx, the numerator subtracts the value of the sum of the left couple of sensors (TL and BL) to the one of the sum of the right couple of sensors (TR and BR) in order to locate the point of the x axis where the COP is. Similarly, the numerator in the COPy formula does the same with the upper and lower sensors to know the point of the y axis where the COP is. This way we would already have our COP, marked by the COPx and COPy coordinates. On both formulas, the denominator normalizes the values so that they range from -1 to 1. We put the scaling factor to 15, so that we have a total of 30 values (from -15 to 15), as our platform (taken from a common "bathroom scale") is 30 cm long, so each integer value would represent a centimeter. This way, the point (0, 0) is located on the middle of the board and COPx is positive on the right part of the board and negative on the left, while COPy is negative on the lower part and positive on the upper part. We can see these results as if we divided the platform with the x and y axes in four equal squares with the origin of coordinates on the middle of the platform (see Figure 4).



Figure 4. Platform division with the x and y axes

We built a program on Arduino to print on-screen the data of COPx and COPy separated by a comma and then a MATLAB program to import it via serial port and plot it, so we can see on real-time the COP changes as we sway in different directions, with a colour-changing dot on the computer screen indicating our current center of pressure, which moves across the x and y axes depending on where on the scale we place more weight (see Figure 5).



Figure 5. MATLAB COP graph

In order to test the accuracy of the scale assessing the center of pressure, we placed a weight on 18 different specific positions of the platform and checked if they corresponded to the same COPx and COPy coordinates shown on-screen. The results and discussion can be seen on following sections.

Given that the COP is represented as a couple of coordinates, we created another program which controlled the mouse cursor with the COPx and COPy results. We implemented two types of mouse cursor control: relative (both via cable and Bluetooth, using a battery as power source on the latter) and absolute (via cable). The relative mouse cursor control sums a specific quantity of pixels (COP * z) to the actual point where the mouse cursor is. The variable z changes according to a sigmoid function, in a similar way that normal computer mice work: the faster you move the mouse, the further the cursor moves, while, if you make slow mouse movements, the mouse cursor moves less distance on-screen, even if you move the mouse the same distance as when you moved it faster [14]. So, in our case, the bigger the value of COPx or COPy, the bigger z would be and the more pixels the mouse cursor would move. This way, if we want to displace fast we can put all of our weight far from the origin of coordinates of the platform, while if we want to move slower, to be more accurate when wanting to reach a specific position, we can distribute our weight closer to the origin of coordinates of the platform. The main disadvantage of this type of control is that in order to stop the mouse cursor, we would have to place our COP on the middle of the board, so that both COPx and COPy are 0, and there is no pixel sum to our actual position.

On the other hand, on the absolute mouse control, each point of the platform represents a specific pixel on the screen, so, once the pixel is reached, the mouse cursor stops. This way we wouldn't have to place our COP on the middle of the board each time we want to stop. The main drawback of this method is the mapping between the values of our platform and the screen pixels of our laptop: there is no one-to-one correspondence, so the control of the mouse cursor is not as smooth as on the relative method.

Once all its functions were implemented, we achieved the final design of our board (see Figure 6). The circuit was made as small as possible and a case was 3D-printed to achieve our goal of portability (both in terms of size and safety to transport).



Figure 6. Final design of our platform: scale with the load sensors, stripboard with the circuit, protection case, micro USB and battery

As previously mentioned, videogames can be useful for rehabilitation, so we also used the mouse cursor control capabilities in order to control a rehabilitation videogame called Werium Airlines, which had been previously tested with inertial sensors as controllers. The game consists on an aeroplane which is able to move either on the x or y axis (we tested it with the x axis). The user controlls the movements (the mouse cursor) by swaying left and right (or forwards and backwards in the case of the y axis), and the goal of the videogame is to introduce the aeroplane in as many circles as possible (of a total of 20), which appear on different parts of the screen. We compared the relative and the absolute mouse control types, in order to check which control fitted better to the videogame. The results and discussion can be seen on following sections.

3. Results

3.1. COP Assessment Accuracy

We tested the COP accuracy of 18 different coordinates on four different days and each day we computed the error between the platform coordinate where we placed the weight and the coordinate shown on-screen by the program. We then performed the average error of the four days and finally the average error per axis (see Table 1).

 Table 1. Average COP error per axis

COPx		СОРу	
	2,06		1,46

3.2. Videogame trials

6 different subjects of average age 29.83 ± 12.59 tried the videogame a total of six times each (three times with the relative mouse cursor control and three times with the absolute one). They were asked to rate each trial from 1 to 5 according to the comfort of the control. The average of

their ratings on each mouse cursor control's comfort was calculated, along with the average of their game scores (the maximum score being 20) (see Table 2).

 Table 2. Average comfort and score according to the mouse

 cursor control

	Comfort	Score
Relative	2,61	7,22
Absolute	3,67	12,22

4. Discussion

4.1. COP Assessment Accuracy

We can see that, generally, the error oscillates between less than a centimeter and slightly more than three, being the rounded averages of the x and y axes 2.06 and 1.46 centimeters, respectively. Taking into account that each side of the platform is 30 cm, it seems to be a relatively small error, as the COPx error represents just the 6.87% of the total width of the platform (30 cm) and the COPy error represents the 4.83% of the total length (also 30 cm). Thus, we could say that the results provide an acceptable COP assessment. We could also conclude that the COPy results are more accurate, although the difference between both errors is quite small (approximately of 0.6 cm), so it could change with more data collection during a higher number of days. Thus, we cannot say for certain if the assessment of the COP of one axis is more accurate than the one of the other.

4.2. Videogame Control

We can see that, both on the comfort and on the videogame score, the results were better with the absolute control. This is mainly due to the fact that a higher precision was obtained with it, as with the relative score it was difficult to place the aeroplane exactly inside the circle, given that, in order to stay still, you had to have a value of COPx = 0, meaning that you had to distribute an equal weight on both legs. This was especially difficult if you wanted to reach a circle on the extremes of the screen, as you had to put the majority of your weight on one leg to reach the circle and then, quickly, distribute it evenly on both legs to make the plane stop. On the other hand, with the absolute control, you just had to find the weight distribution that would put you on the part of the screen where the circle was, and maintain that weight distribution until the circle was passed.

5. Conclusion

The main objective of the project was to develop a platform that was useful for the COP assessment and was, at the same time, cheap and portable. The COP assessment was achieved with a relatively high accuracy, although it can still be improved. The cost of all the materials is not too expensive and the platform can be easily carried by only one person without a big effort, so we could say that the cheapness and portability goals were also achieved. Additionally, we also developed another functionality as a mouse cursor controller, increasing its rehabilitation capabilities, as it can also be used to control a rehabilitation videogame with an acceptable accuracy.

References

- [1] M. W. Kennedy, J. P. Schmiedeler, C. R. Crowell, M. Villano, A. D. Striegel, and J. Kuitse, "Enhanced feedback in balance rehabilitation using the Nintendo Wii balance board." 2011 IEEE 13th Int. Conf. e-Health Networking, Appl. Serv. Heal. 2011, pp. 162–168, 2011.
- [2] R. W. Bohannon, "Gait performance of hemiparetic stroke patients: selected variables." *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 68, no. 11, pp. 777–81, Nov. 1987.
- [3] M. Mancini and F. B. Horak, "The relevance of clinical balance assessment tools to differentiate balance deficits.," *Eur. J. Phys. Rehabil. Med.*, vol. 46, no. 2, pp. 239–48, Jun. 2010.
- [4] J. E. Visser, M. G. Carpenter, H. van der Kooij, and B. R. Bloem, "The clinical utility of posturography." *Clin. Neurophysiol.*, vol. 119, no. 11, pp. 2424–2436, Nov. 2008.
- [5] A. Panjan and N. Sarabon, "Review of Methods for the Evaluation of Human Body Balance." *Sport Sci. Rev.*, vol. 19, no. 5–6, 2010.
- [6] J. W. Błaszczyk, "Sway ratio a new measure for quantifying postural stability.," Acta Neurobiol. Exp. (Wars). vol. 68, no. 1, pp. 51–7, 2008.
- [7] D. Winter, "Human balance and posture control during standing and walking." *Gait Posture*, vol. 3, no. 4, pp. 193– 214, Dec. 1995.
- [8] D. J. Goble, B. L. Cone, and B. W. Fling, "Using the Wii Fit as a tool for balance assessment and neurorehabilitation: The first half decade of 'wii-search," *J. Neuroeng. Rehabil.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–9, 2014.
- [9] Mears D; Hansen L, "Active gaming: definitions, options, and implementation.," *Strateg J Phys Sport Educ*, no. 23, pp. 1–40, 2009.
- [10] J. Howcroft *et al.*, "Active Video Game Play in Children With Cerebral Palsy: Potential for Physical Activity Promotion and Rehabilitation Therapies." *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, vol. 93, no. 8, pp. 1448–1456, Aug. 2012.
- [11] Y. J. Chang, S. F. Chen, and J. Da Huang, "A Kinect-based system for physical rehabilitation: A pilot study for young adults with motor disabilities." *Res. Dev. Disabil.*, vol. 32, no. 6, pp. 2566–2570, 2011.
- [12] "SparkFun Electronics. Getting Started with Load Cells." https://learn.sparkfun.com/tutorials/getting-started-withload-cells?_ga=1.101466817.1788647015.1453914745 (Accessed: October 2019)
- [13] "SparkFun Electronics. Load Cell Amplifier HX711 Breakout Hookup Guide." https://learn.sparkfun.com/tutorials/load-cell-amplifierhx711-breakout-hookupguide?_ga=2.54278561.801503960.1558423735-1530863429.1543566407#introduction (Accessed: October 2019)
- [14] X. Lou, R. Peng, P. Hansen, and X. A. Li, "Effects of User's Hand Orientation and Spatial Movements on Free Hand Interactions with Large Displays Effects of User's Hand Orientation and Spatial Movements on Free Hand Interactions," Int. J. Human–Computer Interact., vol. 00, no. 00, pp. 1–14, 2017.

Haptic technology to tactile perception in robotic surgery

A. Yscadar Cos¹, A. Alcaraz Asensio², M. Puig-Vidal³

¹ Electronic and Biomedical Engineering department, University of Barcelona, Barcelona, Spain, <u>arturo.yscadar@gmail.com</u>

² Urology, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Barcelona, Spain, <u>aalcaraz@clinic.cat</u>

³ Electronic and Biomedical Engineering department, University of Barcelona, Barcelona, Spain, <u>manel.puig@ub.edu</u>

Abstract

Minimally invasive surgical techniques have been constantly evolving since the very first moment they were implemented. Nowadays, robotically assisted systems have been recently introduced in this type of surgical interventions. Although this advanced technology implies significant improvements, these systems still present some lacks. The main flaw is the lack of haptic feedback, in other words, the absence of tactile perception when operating through a remote console that controls the surgical robot.

Although surgeons have got used to this loss of tactile perception, both the unintentional damage of healthy tissues and the rupture of the thread while suturing are still recurring issues. This is why there is a global consensus about the need of providing these surgical systems with haptic feedback.

The main objective of this project is to design a prototype capable of not only controlling a surgical tool from one of the surgical systems currently available in the market, the da Vinci System, but also to integrate it with a haptic device, in order to provide the user with tactile perception while driving a needle imitating a suturing.

Eventually, a functional prototype has been designed with enough force sensitivity for detecting thread tensions when simulating a suturing considerably before the rupture of the suture wire. This prototype integrates LabVIEW software, a Phantom Omni haptic device, a Mover4 robotic arm, 3D printed pieces, a da Vinci EndoWrist tool and four Dynamixel AX-12 servomotors. Nonetheless, this prototype shows mechanical limitations that have been considered in further investigations.

1. Introduction

Minimally invasive surgical techniques are based on the capability of not only observing but also treating inner anatomical structures, through very small incisions. To do that, elongated devices had to be designed. The main invention that allows this technique is the endoscope, a tubular and illuminated optical instrument that allows to observe inner organs and cavities. This device appeared for the first time integrating a light source in 1806, designed by Philip Bozzini [1].

After two centuries and both the implementation of new devices as well as the mastering of minimally invasive operations because of the growth of surgeons' experience and skills, this surgical approach has been considerably improved. Nowadays, it has been recently introduced the robotic assisted surgical systems into this field as a solution for the following losses: mobility and vision. Nonetheless, the reduction of haptic feedback (tactile perception) has not been properly solved yet.

Although there are considerable benefits when using robotassisted surgical methods, the cost viability and efficiency of this type of surgical approach is no longer so beneficial, especially when taking into consideration the considerable cost related to not only the robot, but also the equipment, maintenance, consumables, software and training licenses. Further investigations should be done in order to properly assess the economic viability of this surgical approach. Finally, the future of minimally invasive techniques tends to search for higher miniaturized tools as well as to operate through natural orifices being as less invasive as possible [2].

The Da Vinci Surgical System is based on a robotic surgical equipment developed by Intuitive Surgical, Inc. (Sunnyvale, CA) and it was approved in 2000 by the "Food and Drugs Administration" (FDA) in the United States of America [3].

This system consists of three elements [3]: an ergonomic console (device that enables the surgeon to control the robot), a vision tower (device that includes all the visualization equipment for the central system processing) and a surgical cart (component that acts as a structural support of the arms of the robot).

The Da Vinci robot is not only capable of performing controlled movements in very reduced spaces but also it enhances the vision of the surgeon. Furthermore, the specific instruments provided by Intuitive Surgical are called EndoWrist, which try to mimic the movements of a human hand by implementing 7 degrees of freedom (Fig.1).



Figure 1. EndoWrist instruments of Da Vinci Surgical System

Considering this "haptic technology", the main objective (in a surgical context) is to provide "transparency", in which the surgeon does not feel as if he is operating a remote mechanism. This fact implies a considerable technical challenge as it would be needed not only haptic sensors but also haptic displays that transmit the perception to the surgeon [4]. Moreover, there is a wide range of perceptive channels to generate this feedback, such as: forces, distributed pressure, temperature, vibrations among others.

Then, considering force feedback (kinaesthetic) it is based on a set of sensors that register the exerted force to the object and provide resolved forces to the hand by using a force feedback device[5]. Despite this type of technology has been widely applied in other sectors, when considering the surgical one, there are severe constraints that appear, such as: size, geometry, cost, biocompatibility, and sterilizability. Therefore, there are alternative approaches that try to not use these sensors for patient-side robots designed with low inertia and friction.

The main objective of this project is to design a robotic system capable of providing the user with tactile perception while performing simulated surgical procedures. Furthermore, the proposed prototype should be able to mimic the Da Vinci surgical system by assembling specific tools of this surgical system (EndoWrist instruments) to the final setup as end effectors of the final designed device.

2. Materials and methods

First of all, it was required an observational study of the DaVinci surgical system not only from a clinical perspective but also from a technical one. Thanks to the collaboration of both the Urology Department at the Hospital Clinic and the University of Barcelona we could attend to different surgical interventions such as robotic radical prostatectomies, robotic cystectomies and living donor robotic kidney transplants.

After this observational study, the movement transmission system of this surgical robot was defined. The implemented Endowrist tools can perform complex movements thanks to the combination of rotations of cylindrical pieces that are inside the surgical tool and which are connected from the base to the tip of the tool by using internal ropes. In the same way that a hand moves by flexing its tendons.

Considering the project development stage, the main components of the final prototype are the following: a PC, a haptic device (Phantom Omni haptic), a needle driver EndoWrist surgical tool implemented in the Da Vinci surgical system, four Dynamixel AX-12 servomotors [6], four 'O' rings, a Mover4 and Mover6 robotic arms and both 3D printed structures: discs and frame (Fig. 2).



Figure 2. Hardware components of the final prototype

The mechanical module of the eventually designed prototype (Fig. 3) consisted of an assembly of an EndoWrist surgical tool and four Dynamixel AX-12 servomotors. The movement transmission system between the actuators and the tool consisted of four pairs of 3D printed discs, which perfectly fit both components: motors and tool. Each pair of discs (one for the motors and the other one for the tool) were connected by an 'O' ring. Furthermore, the overall structure was joined thanks to a 3D printed frame that enabled the assembly of the tool, the four servomotors and the Mover4 robotic arm.



Figure 3. Mechanical module

Then, it has been designed and tested with a LabVIEWbased software for controlling the robotic system and integrating all the electronic components involved in the proposed tactile perception.

Taking everything said before into consideration, the functioning of the implemented prototype is the following. First of all, there is a main LabVIEW-based program capable of integrating all the components used, hence, it is considered the main user interface of the prototype. Moreover, the key idea behind the functioning of the device is the fact that there is a bidirectional communication between the haptic device and the servomotors.

When moving the stylus of the haptic device, we can record the angles and positions of the tip of this stylus and then translate them into a combination of servomotors rotations in order to reproduce with the surgical tool the same movements performed by the stylus.

However, this is only one of the two directions of communication, in this case we have exposed the information flow from the haptic device to the servomotors. Now considering the other direction (from servomotors to haptic device), the prototype is capable of constantly recording the torques (or rotation forces) of each servomotor.

When performing a rotation that presents some resistance to the movement, the servomotors require more current and generate more torque in order to perform the desired rotation, therefore, higher resistances to a movement are translated into higher motor torques. These torque recordings are sent to the haptic device, which is able to generate forces against the stylus movement virtually creating a haptic feedback. Hence, the higher the torques, the higher the resistances to move the haptic stylus. This is possible thanks to the fact that the Phantom Omni haptic device has three inner motors, which are able to perform rotations contrary to the movement done by the stylus or the end effector of the device.

Furthermore, the Mover4 robotic arm has been controlled with the same haptic device. Thanks to the TCP/IP communication between the PC and the robotic arm, we can not only change the orientation of the surgical tool, but also to change its spatial position by controlling the Mover4 structure just moving the stylus of the haptic device.

Finally, as an evaluation technique of the performance quality of the final designed setup, it has been done some testing scenarios such as stitching procedures in which it has been measured the force exerted by the robot. As it can be observed, the testing scenarios reproduce the usual issues during surgical interventions mentioned before.

3. Results

Two main types of experiments were done to test the suitability of the prototype functionality. First of all, by performing very simple motions with the haptic stylus, the three tool orientation movements were tested (roll, pitch and yaw orientation angles). In this way, we have validated that the surgical needle held by EndoWrist Da Vinci Tool has a proper manoeuvrability mimicking the haptic stylus movements. The setup involved in this experiment (Fig. 4) shows the haptic stylus orientation movement and the surgical needle mimicking it.



Figure 4. Experimental setup for the manoeuvrability test

Secondly, a force feedback experimental validation was done. On one hand, it has been tested both the traction force resistance of the implemented thread, as well as, the rotation force or torque that could exert one servomotor. The required setup for this validation consisted a single Dynamixel AX-12 servomotor pulling a surgical thread attached to a force sensor device. When rotating the servomotor, the thread started pulling the dynamometer exerting a traction force that was progressively registered. The experiment was carried out until the thread broke.

The rupture of the thread tested was equal to 2,5 Kg of force, this force corresponds to a torque or rotation force of the servomotors equal to a 26% with respect to the maximum rotation force or torque that could be exerted by the Dynamixel AX-12 servomotors implemented (1,5 N·m of stall torque). Fig. 5 shows torque recorded while performing this experiment.



Figure 5. (Left) Setup implemented. (Right)Torque reading until thread breaks

On the other hand, it has been measured the force exerted on the system while performing movements while holding a surgical needle with the prototype, by attaching the loose end of the suture thread to a force sensor device. The eventually designed prototype was able to register variations in traction forces exerted to the surgical thread equal to 10% of torque or 1,2 Kg of force (while performing the suturing simulations, Fig. 6). Therefore, the eventually designed prototype can provide a significant force and torque sensitivity considerably before the rupture of the thread of suture. This is the reason why we could state that it has been achieved one of the main goals of this project, the fact of providing tactile perception when performing suturing simulations.



Figure 6. Torque readings when using the final prototype

4. Discussion

The eventually designed prototype has been always considered as an initial step of investigation. Hence, although the setup designed in this project fulfils the initial objectives of the project, it clearly shows some weaknesses or flaws that should be taken into account.

On one hand, considering the hardware of the device there is crucial mechanical limitation of the movement transmission system implemented between the servomotors and the EndoWrist. Because of the use of 'O' rings and 3D printed discs, there is a considerable sliding effect between these two beforementioned components, and this is the reason why when exerting too much resistance to the surgical tool movement, the servomotors keep rotating while the tool no longer moves.

Moreover, taking into consideration that the 3D discs connected to the EndoWrist surgical tool are joined by screws directly attached to the instrument, this system is no longer capable of quickly inserting and removing different EndoWrist tools as the da Vinci surgical system does. In addition, the fact of using screws cause a considerable mechanical stress to the structure, which could eventually break the assembling frame.

On the other hand, taking into account the software designed, it is of truly interest to properly program a software capable of translating the torques or rotation forces from the four servomotors to the x,y and z torques required by the haptic device. The proposed software should be able to consider the geometry of the particular experiment performed in order to emphasize the axis in which the user could feel the force feedback more easily.

Finally, in order to solve the sliding effect above mentioned, as well as, to ease replace and exchange EndoWrist tools, a new 3D printed connection mechanism has been designed based on a direct movement transmission. Using smaller servomotors (the Dynamixel XL-320), it was possible to place the servomotors properly to perform a direct transmission movement to the moving discs of the surgical tool (Fig. 7). One could observe the new printed columnar structure attached to one servomotor. Thanks to these columns one could directly connect the servomotors to the surgical tool. In addition, three of the four columns are really short, but because of spatial limitations and in order to avoid collision between motors, the fourth column is considerably higher (Fig. 8).



Figure 7. Vertical realignment of the new servomotors

Moreover, to properly attach the before explained columnar structures with the surgical tool, it was necessary to design four 3D printed discs for each disc of the EndoWrist, each one with a pair of indents (Fig. 8). One could clearly observe how when rotating the columnar structures attached to the servomotors, they automatically get inserted into the indents after passing through the progressive slopes present in the upper part of the 3D disc joined to the Da Vinci surgical tool. In this way one is both avoiding the use of 'O' rings and easing the mechanical connection between the servomotors and the EndoWrist by basically implementing two adapters.



Figure 8. Designs of discs for: (left) the da Vinci surgical tool (right) the small servomotors (columnar structures)

5. Conclusions

One could state that it has been successfully designed a proof of concept of an integration between haptic technology and surgical robotics, because the eventually designed device is capable of properly controlling an EndoWrist while providing the user with tactile perception fulfilling all the initial objectives planned at the beginning of the project. Nonetheless, some flaws were detected (concerning both hardware and software) in the eventually designed prototype. This is the reason why this project should be considered an initial step of investigation that could be improved by performing further investigation described in Discussion section.

Finally, it is worth mentioning the fact that one is aiming to solve a real and current need of robotically assisted minimally invasive surgery, which means that one is trying to deal with an issue affecting the daily clinical practice, fact that would eventually mean an improvement not only for the patients but also for the surgeons among other clinical personnel.

Acknowledgements

Finally, thank the previous organizing committees of CASEIB for their kindness for allowing us to use their style guides as a reference for the realization of this document. Furthermore, it is of great appreciation the financial support provided by the University of Barcelona, which has allowed the development of this project. Moreover, thank the invaluable 3D printing assistance service given by the CREA area from the CRAI (resource centre for learning and research) of the University of Barcelona. And, finally, a sincere gratitude to the urology service of the Hospital Clinic i Provincial of Barcelona.

References

- Lee-Kong, S., & Feingold, D. L. The history of minimally invasive surgery. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*, vol 24, sup 1, 2013, pp 3-6. WB Saunders. (ISSN: 2219-2840).
- [2] Mack, M. J. Minimally invasive and robotic surgery. Jama, vol 285, sup 5, 2001, pp 568-572. (ISSN: 0098-7484).
- [3] Freschi, C., Ferrari, V., Melfi, F., Ferrari, M., Mosca, F., & Cuschieri, A. Technical review of the da Vinci surgical telemanipulator. The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery, vol 9, sup 4, 2013, pp 396-406. (ISSN: 1478-596X)
- [4] Saracino, A., Deguet, A., Staderini, F., Boushaki, M. N., Cianchi, F., Menciassi, A., & Sinibaldi, E. Haptic feedback in the da Vinci Research Kit (dVRK): A user study based on grasping, palpation, and incision tasks. *The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery*, vol 15, sup 4, 2019, e1999. ISSN: 1478-596X).
- [5] Li, L., Yu, B., Yang, C., Vagdargi, P., Srivatsan, R. A., & Choset, H. Development of an inexpensive tri-axial force sensor for minimally invasive surgery. *International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS)* IEEE, 2017, pp. 906-913. (ISSN: 2153-0866).
- [6] Robotis: AX-12/AX-12+/AX-12. (Robotis 2019). http://support.robotis.com/en/product/actuator/dynamixel/a x_series/dxl_ax_actuator.htm (Accessed 6 Apr. 2019).

Textural and Morphological Features for Grading Brain Cancer Images

J. Tarancón-Rey¹, A. Fernández-Comesaña¹, C. Soguero-Ruiz¹, I. Mora-Jiménez¹, D. Glotsos²

¹ Department of Signal Theory and Communications, Telematics and Computing Systems. Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España. j.tarancon.2016@alumnos.urjc.es, a.fernandez.2016@alumnos.urjc.es, cristina.soguero@urjc.es, inmaculada.mora@urjc.es

²Medical Signal and Image Processing Lab, Dept. of Biomedical Engineering. West Attica University, Athens, Greece. dimglo@uniwa.gr

Abstract– Grading brain cancer is an important task for cancer treatment planning. The grade level may depend on the variability between observers when this process is manual. The present study proposes an automatic classification algorithm to differentiate low-grade tumors (I-II) from high-grade tumors (III-IV) in microscopy images. The real target for each image was provided by histopathologists, who visually examined the images and determined their grade. Image preprocessing (binarization and filtering) and subsequent feature extraction are carried out prior to the classification process. Specifically, first and second order textural and morphological features are obtained. Based on these features, minimum distance classifier and a k-Nearest Neighbour classifier are evaluated. Results indicate that both grades can be separated with an accuracy of 76,47%.

I. Introduction

Brain cancer is a major disease that has affected 379,848 people in the United States during the most recent time-frame measured 2010-2014, according to [1]. In obedience to the National Cancer Institute, the number of new cases for the year 2019 in United States is 23,820, of which 17,760 will correspond to cancer deaths, with a five-year survival rate of 32.9%. These figures should be lower in a society in which there are, increasingly, facilities to diagnose and treat most of diseases affecting the human being [2].

A brain tumor is a mass of abnormal cells growing inside the brain. They can be classified as primary and secondary tumors, also known as metastatic. While primary tumors start in the brain, secondary tumors are originated in another part of the body [3]. There are different degrees of abnormality of cancer cells, named tumor grades. They are usually determined using features related to the architecture of the tissue (density and size of cells, or density of vessels and necrosis), the cell morphology and textural features.

For example, authors in [4] try to investigate a new method to maximize the probability of brain cancer type detection (distinguish between benign and malignant) without biopsy procedure. To carry it out, the proposed method combines both image and statistical analysis for tumor type detection. It employed image filtration and segmentation of the region of interest (target). Statistical analysis was based on the mean, range, box plot, and testing of hypothesis was considered to reach acceptable and accurate results to differentiate between both types of tumors. The results showed that the proposed method was quite successful in distinguishing between malignant and benign brain tumor, with 95% confident that the results are correct on a set of 42 images (23 of malignant tumor and 19 of benign tumor).

On the other hand, authors in [5] performed the classification of gliomas, which is a brain cancer starting in the neuroglial cells (cells that surround and support nerve cells) [2], into two categories: high grade glioma (HGG) and low grade glioma (LGG). Towards that end, they use two techniques: a cellular segmentation and the creation of a cell count profile for the identification of pseudopalising necrosis, and a personalized operation of spatial and morphological filters to accurately identify microvascular proliferation. They conclude that the proposed method can support clinicians to effectively separate histopathology slides into LGG and HGG categories, particularly when the analysis of a large number of slides is needed.

The work presented in this paper is in line with the work in [5]. Our objective is to support the clinician in the process of grading of brain cancer images, to try to reduce subjectivity at this diagnostic stage. For this purpose, we propose to design a classifier based on labeled images, considering both textural and morphological features of the cell nucleus. The structure of the work is as follows. Section II briefly describes the material and methods used to carry out this study. The results are shown in Section III. Finally, Section IV presents the main conclusions and future work.

II. Material and Methods

A total of 30 brain cancer samples were considered in this work (15 of each grade). All samples were stained using the Hematoxylin and Eosin (H&E) technique, and the most representative areas were digitized using a DFC 420 digital camera and objectives of x40 and x63. These objectives were used because textural features are only appreciable using large objectives, and these features have been used to obtain good classification performance [6]. The resulting images were labelled by a histopathologist. Figure 1 (a) show a high-grade brain cancer image in our database, and Fig. 1 (e) a low-grade brain cancer image. Blurred images were discarded, ending up in 30 low grade brain cancer images and 27 corresponding to high grade, making a total of 57 images. Digitized images where stored by using TIFF format and three color channels (red, green, blue), i.e., RGB images, with a depth of eight bits per channel.



Fig. 1: Image preprocessing stages. First row correspond to a high-grade brain cancer image, and second row to a low-grade brain cancer image. Panels (a) and (e) are the digitized H\$\&\$E samples (RGB images). Panels (b) and (f) are the corresponding grayscale images. The result of thresholding is in panels (c) and (g), and the blobs used for feature extraction are in panels (d) and (h).

A. Image Preprocessing

Image preprocessing is considered here to make easier the task of nuclei segmentation of brain cells. First, RGB images were converted to grayscale to reduce the computational burden of the classification, using 8 bits/pixel (see Fig. 1 (b) and Fig. 1 (f) in the case of highgrade and low-grade brain cancer images, respectively). Then, a global threshold was applied on the grayscale image to segment the nucleus of brain cells. The threshold was empirically found by setting it to the fifth percentile of the intensity levels of the whole image. Pixels with an intensity value lower than the threshold were considered as foreground, which ideally correspond to the cell nuclei. To smooth the boundaries of the cell nucleus, a binary morphological opening filter [7] with a square of 9x9 pixels as structural element was applied on the binary image (with the blobs as foreground), providing Fig. 1 (c) and Fig. 1 (g) in the case of high-grade and low-grade brain cancer images, respectively. Then, the mean size (area) of the blobs in the image was computed, and blobs with a size lower than the mean size were removed for the subsequent analysis. Blobs connected to the edges of the image were supposed to be incomplete nuclei and were also removed. After segmentation, several features were computed for each blob (ideally, each blob corresponds to a brain cell nucleus). These features will be considered as input features to design a binary classifier to distinguish between low/high grade tumors.

For visualization purposes, the binary image acts as a mask on the gray image to define the region of interest (ROI), resulting in Fig. 1 (d) in the case of high-grade, and in Fig. 1 (h) in the case of low grade, where pixels inside the ROI has the original graylevel.

B. Feature Extraction

For each preprocessed image, nine features were obtained. First, each blob of the image was analysed to extract these features. Then, features of all blobs in the same image were averaged so that just one value per feature was obtained for each image. The nine features, which are grouped in column vector \mathbf{x} per image, come from three families of features:

- 1) **Morphological Features:** These features describe the shape and size of nuclei [7,8]. Among them, we can find:
- Area: It corresponds to the number of pixels defining the blob.
- **Perimeter:** It is the length of the contour of a blob.
- **Roundness:** It characterizes the circularity of the cell nuclei, providing low values for circular nuclei and high values for irregular boundaries. It is calculated as:

$$Roundness = \frac{Perimeter^2}{4 \cdot \pi \cdot Area} \tag{1}$$

- **Concavity:** Defined as indentations in the blobs [9]. For the calculation of this feature, a mask was created in which all the pixels had a value of minus one. Subsequently, the concavity lines of each nucleus were drawn on it, also painting the area they collect (all with a value of zero). Finally, the contours were drawn with a value of 255 and it only remains to count the number of zeros in each nucleus.
- First Order Textural Features: These features are calculated from individual pixels and do not consider pixel relationships [7, 10, 11].
- **Mean Value:** It is the average graylevel when considering all the pixels that constitute a blob.
- Standard Deviation: It indicates how graylevels in the blob are spread out from the average value. When the graylevels are pretty tightly bunched together, the

standard deviation is small. When the blob contains pixels with a wide range of different grayleves, then the standard deviation is large.

- 3) Second Order Textural Features: These features are calculated considering the relationships between pairs of pixels, and they are obtained using the co-occurrence matrix [6]. In some way, the co-occurrence matrix can encode the textural information in an image through the spatial relationship that graylevels have between them. The co-occurrence matrix is a square matrix with so many rows and columns as different graylevels can be present in the image. The co-occurrence matrix indicates the frequency with which pairs of pixels, separated a certain distance (usually adjacent pixels) at an specific direction (usually, 0, 90, 45 and 135 degrees), have a particular sequence of graylevels (particular row and column). One co-occurrence matrix is obtained per direction and distance between pairs of pixels. Thus, four co-occurrence matrices (0, 90, 45 and 135 degrees) were calculated per each blob. For this, pairs of pixels in different directions (horizontally, vertically and diagonally) were considered. To obtain the cooccurrence matrix, the average of the four co-occurrence matrices for each blob of the image was calculated. To avoid that the noise can affect to the number of patterns and therefore can modify the co-occurrence matrix, a uniform quantification of the original dynamic range was applied before computing the co-occurrence matrices. In particular, the original dynamic range (256 graylevels) was divided into sixteen uniform quantums [7], with a subsequent reduction in the computational load.
- **Contrast (CON):** It is a measure of the local intensity variation in the blob. It is calculated as:

$$CON = \sum_{n=0}^{Ng-1} n^2 \left(\sum_{i=0}^{Ng-1} \sum_{j=0}^{Ng-1} p(i,j) \right), |i-j| = n \quad (2)$$

where Ng is the number of considered quantums. The value of p(i,j), $i,j=0, \ldots, Ng-1$ correspond to the content of the co-occurrence matrix p for the *i*-th and *j*-th quantum in the pattern of two adjacent pixels.

- Entropy (ENT): It is a measure of the ``uncertainty" of the elements of the co-occurrence matrix *p*. It takes high values when the elements of *p* have similar values [7]. It is calculated as:

$$ENT = -\sum_{i=0}^{Ng-1} \sum_{j=0}^{Ng-1} p(i,j) \cdot \log_2(p(i,j))$$
(3)

- Angular Second Moment (ASM): It is a measure of local homogeneity in the co-occurrence matrix *p*. This measure gives high values when *p* has few elements of great magnitude, and low values when all elements are similar. It is computed as:

$$ASM = -\sum_{i=0}^{Ng-1} \sum_{j=0}^{Ng-1} (p(i,j))^{2}$$
(4)

The obtained features (one per image) were saved in tables (the Pandas library was used). Then, each feature was normalized following a standardization process to have zero mean and standard deviation equal to one.

C. Classifiers

Our aim in this section is to use the features calculated before to construct a statistical classifier able to distinguish between two classes, High Grade images and Low Grade images. It is important to highlight that the classifier design uses labelled images. Performance measures in binary classification tasks can be obtained from the confusion matrix [12]. In this work, we analyze the performance of the classifier in terms of specificity, sensitivity and accuracy.

- Minimum distance classifier: It defines the decision hyperplane on the bisector connecting the average vector when considering samples of each class [13]. In the case addressed in this work, there are two classes, which refer to the high or low grade of the tumor.
- Self Consistency Method (SCM): For its implementation, it is necessary to obtain the discriminant function *d* associated to each class. The discriminant function used in this work is as follows [14]:

$$d_j(\boldsymbol{x}) = \boldsymbol{x}^T \cdot \boldsymbol{m}_j - 0.5 \cdot (\boldsymbol{m}_j \cdot \boldsymbol{m}_j^T), j = 1,2 \quad (5)$$

where **x** is the feature vector to be classified, and \mathbf{m}_j is the mean vector for the *j*-th class. In this work, j=1 corresponds to high-grade tumors and j=2 is associated to low-grade tumors.

After computing both discriminant functions, these values are compared and the following criteria are applied:

- If d_1<d_2, x is assigned to class 2 (low-grade tumor).
- If d_1>d_2, x is assigned to class 1 (high-grade tumor).

In this work, SCM was applied using only two features. Firstly, we check the performance of this classifier using mean value and the standard deviation (first order textural features). Secondly, CON and ENT (second order textural features) were considered, since these textural features may allow to achieve good performance [15].

- Leave-One-Out Method (LOOM): It follows the same criterion as SCM, but computing the mean vectors as many times as samples are labelled. In the LOOM, every sample of the dataset is set apart once. To classify this sample, the discriminant function d in Eq. (5) is obtained by computing mean vectors \mathbf{m}_j , j=1,2 with the remaining samples. This process is repeated N times (N=57 in this work), getting a classification for each image.
- Exhaustive Search and Leave-One-Out Method (ES&LOOM); This classifier consists in removing from the set of features just one feature and applying the LOOM in the same way as previously explained. This process is repeated as many times as features are considered. The best result provided by the LOOM is selected as the final result for the ES&LOOM.

2) k-Nearest Neighbor Classifier (k-nn): The k-nn classifier is a non-parametric technique, i.e., it does not make any assumption about the distribution of each class [16]. The simplest k-nn approach, named voting k-nn, assigns a sample in the feature space to the most represented class among the k closest samples. For computing proximity between samples, the Euclidean distance is usually considered (also in this work).

Different classifiers can be obtained when changing parameter k, since its value affects to the region around the sample to be considered. Given a feature space and a set of labelled samples, the lower the value of k, the more local the classifier will be. In this work, we chose the best value for k by a three-fold cross validation procedure [16] resulting in k=3.

III. Results

Three performance measurements were computed for each classifier, i.e., accuracy, sensitivity and specificity. Table I shows the number of features and the performance obtained when using four classifiers, namely, SCM, LOOM, ES&LOOM and k-nn. CON and ENT (second order textural features) were considered for SCM and LOOM classifiers. In addition to the previous features, mean value and area (morphological and first order textural features) were evaluated when training a ES&LOOM classifier; whereas all features were taking into account when using a k-nn classifier. Several conclusions can be drawn. On the one hand, in terms of accuracy, the best value (76,47%) was obtained when applying k-nn, following by ES&LOOM, LOOM and SCM. On the other hand, specificity values are, in general, higher than sensitivity which means that classifiers have a greater capacity to detect low-grade cases than high-grade cases. This result is not entirely satisfactory, as it would be better to have greater precision in the diagnosis of high-grade cancers since they involve a greater danger to the patient. Nevertheless, k-nn classifier yields a sensitivity of 83,33%, which implies discriminatory power in the data to identify properly high grade brain cancer images.

	SCM	LOOM	ES&	k-nn
			LOOM	
# of feat	2	2	4	9
Accuracy	57.89%	61,40%	72,20%	76,47%
Sensitivity	53,33%	40,00%	77,78%	83,33%
Specificity	62,96%	85,19%	66,67%	72,73%

Table I: Number of features and performance measures (accuracy, specificity and sensitivity) when using four classifiers (in columns).

IV. Conclusions and Future Work

In this paper, several classifiers were designed to support grading of brain cancer images according to texture and morphological features. Results indicate that the proposed methodology is a good step towards a better diagnosis. Taking into account the classification methods used, our results are comparable in performance to those presented in [5], but possibly with a lower computational load. Note also that, since the Hematoxylin and Eosin staining method used in our study is not as accurate in nuclear localization as the staining methods used by most similar cancer grading studies, our results might be considered promising. As future work, we propose to design classifiers based on Support Vector Machines (SVM), which, in general, provide better results than *k-nn* and are less intensive in operation. A different approach, also to be explored, is to perform a feature selection process guided by the classifier (decision trees, embedded method) or based on a wrapped approach using SVM. Finally, classification of every blob (cell nucleus) in the image and a voting procedure to grade the tumor in the image will also be considered.

References

- [1] Web page of CBTRUS ("Central Brain Tumor Registry of the United States"). *http://cbtrus.org*
- Web page of "Instituto Nacional del cáncer". https://www.cancer.gov (Consulted: October 2019).
- [3] Web page of SEOM ("Sociedad Española de Oncología Médica"). *https://seom.org* (Consulted: October 2019).
- [4] Al-Naami, et al. (2011). Statistical approach for brain cancer classification using a region growing threshold. J. of Medical Systems, 35(4), 463-471.
- [5] Mousavi, H.S., et al. (2015). Automated discrimination of lower and higher grade gliomas based on histopathological image analysis. Journal of Pathology Informatics, 6.
- [6] Webb, Andrew R. Statistical pattern recognition. John Wiley & Sons, 2003.
- [7] Gonzalez, R. C., & Woods, R. E. *Digital image processing*. Pearson Education, 2002.
- [8] Glotsos, D., et al. (2008). Improving accuracy in astrocytomas grading by integrating a robust least squares mapping driven support vector machine classifier into a two level grade classification scheme, Comput Methods Programs Biomed, 90(3), 251-261.
- Street, W. N., Wolberg, W. H., & Mangasarian, O. L. (1993, July). *Nuclear feature extraction for breast tumor diagnosis*. In Biomedical Image Processing and Biomedical Visualization (Vol. 1905, pp. 861-870). International Society for Optics and Photonics.
- [10] N. Aggarwal, R. K. Agrawa. First and Second Order Statistics Features for Classification of Magnetic Resonance Brain Images, vol 3, No.2, 2012, Article ID: 19553, 8 pages.
- [11] Kumar, V., & Gupta, P. (2012). Importance of statistical measures in digital image processing. International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering, 2(8), 56-62.
- [12] Soguero-Ruiz, C., et al. (2014). Support vector feature selection for early detection of anastomosis leakage from bag-of-words in electronic health records. IEEE J Biomed Health, 20(5), 1404-1415.
- [13] Jain, A. K., et al. (2000). Statistical pattern recognition: A review. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 22(1), 4-37.
- [14] Theodoridis, S., et al. (2010). *Introduction to pattern recognition: a matlab approach*. Academic Press.
- [15] Glotsos, D., et al. (2014, January). A GPU-based computerassisted microscopy system for assessing the importance of different families of histological characteristics in cancer diagnosis. In Fifth International Conference on Graphic and Image Processing (ICGIP 2013) (Vol. 9069, p. 90691I).
- [16] Duda, R. O., Hart, P. E., & Stork, D. G. (2012). *Pattern classification*. John Wiley & Sons.

Desarrollo de un asistente virtual enfocado a la educación gamificada en infecciones de trasmisión sexual

J. D. Trigo Vilaseca^{1,2}, V. Duro Suárez^{2,3,4}, I. Picallo Guembe^{1,2}, P. López-Iturri^{1,2}, J. J. Astrain Escola^{2,5}, F. J. Falcone Lanas^{1,2}, G. Tiberio López^{4,6}, L. Serrano-Arriezu^{1,2}

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica Electrónica y de Comunicación, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, {jesusdaniel.trigo, imanol.picallo, peio.lopez, francisco.falcone, lserrano}@unavarra.es

² Instituto de Smart Cities, Pamplona, Navarra

³ Servicio de Medicina Interna, Hospital García Orcoyen, Estella, Navarra, victoria.duro.suarez@navarra.es

⁴ Departamento de Ciencias de la Salud, UPNA, Pamplona, Navarra

⁵ Departamento de Estadística, Informática y Matemáticas, UPNA, Pamplona, Navarra, josej.astrain@unavarra.es

⁶ Servicio de Medicina Interna, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, Navarra, gregorio.tiberio@navarra.es

Resumen

Las Infecciones de transmisión sexual (ITS) se propagan de una persona a otra generalmente durante las relaciones sexuales. Entre ellas, destaca especialmente el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), ya que hoy en día éste supone una pandemia según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Por otro lado, la gamificación es una técnica de aprendizaje que traslada la mecánica de los juegos al ámbito educativo-profesional con el fin de conseguir mejores resultados. En este trabajo se presenta la implementación (arquitectura, flujos de información y actores) de un asistente virtual (AV) que plantea un juego de preguntas sobre ITS divididas en sucesivos niveles. Asimismo, el AV proporciona unas estadísticas para seguir los progresos del usuario. Como el proceso enseñanzaaprendizaje es mediante un juego, el sistema propuesto ayudaría a captar el interés de la población joven, más expuesta a ITS.

1. Introducción

Las Infecciones de transmisión sexual (ITS) son un conjunto de afecciones clínicas infectocontagiosas que se transmiten, generalmente, mediante el contacto que se produce durante las relaciones sexuales. Las más comunes son clamidia, gonorrea, hepatitis, herpes, virus del papiloma humano, vaginosis bacteriana, sífilis y Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). El VIH es un importante problema de salud pública mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia mundial de la infección en 2015 era de 36,7 millones de personas (35000 en España). Hasta este momento, el VIH se ha cobrado más de 35 millones de vidas, 1.1 millones en 2015 [1]. La adhesión al tratamiento de los afectos, el conocimiento sobre la propia enfermedad, los mecanismos de transmisión y prevención de la misma son claves a la hora de frenar la epidemia. En 2016, la OMS aprobó una nueva estrategia contra el VIH, fomentando la divulgación de información y el uso de la innovación para agilizarla [1].

Mediante la educación en salud se puede conseguir una mejor adherencia terapéutica y la modificación de estilos de vida poco saludables. En particular, se ha demostrado que mediante sistemas informáticos se puede mejorar del comportamiento de los usuarios en ámbitos como la nutrición, el tabaquismo, el abuso de sustancias o las ITS [2]. Por otro lado, con la gamificación se persigue conseguir mejores resultados en el proceso de enseñanzaaprendizaje mediante la aplicación de diversas técnicas basadas en juegos, por ejemplo, acumulación de puntos, escalado de niveles, obtención de premios, regalos, clasificaciones, desafíos, misiones, retos, estatus, logro, competición, etc [3].

En paralelo, a nivel tecnológico, se han popularizado los Asistentes Virtuales (AV), conocidos como bots, programas informáticos que simulan conversaciones humanas. Diversas plataformas (tales como Telegram, Facebook, Twitter, Skype, etc.) ofrecen unas interfaces abiertas ("Application Programming Interfaces", APIs) para que terceros desarrollen sus propios AVs de forma que los usuarios puedan acceder a estos servicios. En la literatura aparecen AV aplicados en entornos de salud, por ejemplo, promoviendo el ejercicio en población adulta [4].

Por todos estos motivos, este trabajo tiene como objetivo implementar un juego de preguntas y respuestas basado en un AV que esté enfocado a la educación en salud, concretamente en el campo de las ITS. Para el, se diseñará e implementará la arquitectura tecnológica necesaria, incluyendo los flujos de información y los actores, y se diseñará la lógica del AV de forma que plantee las preguntas del juego y devuelva explicaciones razonadas de la respuesta correcta. Asimismo, el programa integrará unas estadísticas de progreso y ayuda al usuario.

2. Dinámica del juego

Al crear una nueva conversación con el AV, comienza un juego de preguntas. El juego consta de 50 preguntas, clasificadas en niveles según su dificultad, diseñadas por personal médico del servicio de medicina interna del Hospital García Orcoyen de Navarra [5]. Cada pregunta tiene cuatro respuestas posibles y sólo una es correcta. Si se aciertan todas las preguntas del nivel se pasará al siguiente, si se falla alguna, no. Cada vez que se conteste a una pregunta el AV informará si se ha acertado o no, y dará una explicación. Se podrán ver las estadísticas del jugador cuando se desee y en caso de tener alguna duda con el funcionamiento del AV se podrá consultar la ayuda.

3. Estructura tecnológica

3.1. Arquitectura propuesta

Se ha seleccionado la plataforma Telegram para el desarrollo del AV. La arquitectura propuesta se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Arquitectura propuesta

3.2. Flujo de información

Los pasos que sigue un mensaje desde que es enviado por el usuario hasta que éste recibe la contestación son los siguientes (Figura 1):

- 1. El usuario envía un mensaje de texto con el comando deseado al servidor de Telegram, éste lo procesa y obtiene una salida en formato JavaScript Object Notation (JSON).
- Telegram envía dicho JSON al servidor donde se aloja la aplicación web mediante un webhook: se envía una solicitud Hypertext Transfer Protocol (HTTP) a un Uniform Resource Identifier (URI).
- 3. La aplicación web se ejecuta en función del comando recibido, se establece una conexión con la base de datos (3.1. Se envía una consulta y 3.2. se recibe la respuesta). Una vez termina la ejecución se genera una salida.
- 4. Dicha salida se envía por medio de la API de AV al servidor de Telegram (se crea un objeto y se utiliza uno de sus atributos para realizar el envío).
- 5. Telegram envía la respuesta al usuario en formato JSON.

Se han implementado tres comandos que se pueden introducir en el campo de entrada:

- /start: Empieza el juego, se envía la primera pregunta y borra todos los progresos.
- /ayuda: Muestra la lista de comandos existentes.
- /estadisticas: Muestra las siguientes propiedades: el identificador del chat, el nivel, las preguntas acertadas en el nivel, las preguntas realizadas en el nivel, preguntas totales en el nivel, preguntas totales acertadas, preguntas totales realizadas y preguntas totales.

Como es habitual en Telegram, para que no sea necesario escribir los comandos, está configurado que al introducir el carácter "/" aparezca en pantalla la lista de los comandos y sólo con hacer click se envíen automáticamente.

3.3. Actores

Usuario

El usuario debe instalarse la aplicación Telegram en un dispositivo compatible. A continuación, iniciará una conversación con el AV. A partir de aquí, podrá jugar siguiendo las reglas descritas en las secciones anteriores.

Plataforma Telegram

Como gestor e intermediario entre el usuario y el AV implementado se usa Telegram y su API.

Servidor

Es el núcleo de desarrollo del trabajo y está compuesto por el servidor web, donde se ejecuta el AV, y la base de datos, donde se almacena la información. Se ha elegido una solución Platform as a Service (PaaS) para alojar el servidor, concretamente Heroku.

El servidor web procesa la aplicación en el lado del servidor realizando conexiones con el cliente y generando las respuestas que este recibirá. Para transmitir los datos en este caso se utiliza el protocolo HTTPS. Se ha programado en PHP (Hypertext Preprocessor), ya que es un lenguaje de código abierto adecuado para el desarrollo de aplicaciones web. El diagrama de flujo mostrado en la Figura 2 ilustra el funcionamiento del programa.

Para la base de datos se ha decidido utilizar PostgreSQL, que es un sistema de gestión de bases de datos relacional orientado a objetos y libre. Está estructurada en dos tablas: una de preguntas y otra de usuarios. La tabla de preguntas consta de las siguientes columnas:

- id: El identificador de pregunta.
- preguntas: Pregunta.
- a: Opción A.
- b: Opción B.
- c: Opción C.
- d: Opción D.
- correcta: La opción correcta (A, B, C o D).
- nivel: El nivel en función de la dificultad.
- explicación: Aclaración de la respuesta.
- categoría: Tema sobre el que trata la pregunta.

La tabla de usuarios consta de las siguientes columnas:

- chat id: El identificador de usuario de la tabla.
- chat_id: El identificador de usuario que proporciona Telegram.
- numero_pregunta: La pregunta que debe enviar el bot.
- aciertos: El número de preguntas acertadas en un nivel.
- nivel: El nivel de las preguntas que envía el bot.
- aciertos_totales: El número total de preguntas acertadas contando todos los niveles.



Figura 2. Algoritmo del servidor

4. Resultados

A continuación, se muestran dos capturas de pantalla para ilustrar el funcionamiento del AV (Figura 3 y Figura 4).



Figura 3. Inicio del juego



Figura 4. Pregunta acertada

5. Discusión, conclusiones y líneas futuras

Hoy en día, la tecnología está muy presente en todas las facetas de nuestra vida, por lo que resulta interesante aprovecharla a la hora de fomentar la salud y prevenir enfermedades. Una aplicación como la que se ha desarrollado puede ser un pilar importante en las consultas dirigidas a pacientes con ITS, en especial con VIH, ya que se induce de manera interactiva al estudio y al conocimiento de la enfermedad que padecen y el tratamiento que reciben. El sistema podría favorecer la adherencia al tratamiento y la buena relación médicopaciente, puntos fundamentales a la hora de controlar en la mayor medida posible la epidemia de VIH que existe en nuestros días. Además, dado que un juego canaliza el proceso enseñanza-aprendizaje, el sistema ayudaría a fomentar el interés de la población joven, más expuesta a ITS.

Cabría discutir si el sistema propuesto encaja en la definición de gamificación. A día de hoy, no existe consenso en la literatura para conceptualizar el término [6-10]. Sin embargo, por lo general, las diversas definiciones que se encuentran tienden a describir la gamificación como un sistema que permita motivar y captar a los usuarios finales mediante la inclusión de elementos y mecánicas propias de los juegos en contextos no lúdicos [3]. De manera análoga, definir si son o lo que son elementos o mecánicas propios de los juegos tiene asimismo un componente de subjetividad. En cualquier caso, el sistema propuesto ya incluye algunas de las características que se suelen encontrar en la literatura entre los elementos habituales de gamificación (en concreto, escalado de niveles y certificado de la progresión). Además, con modificaciones menores se podrían añadir algunos otros elementos de gamificación (por ejemplo, un sistema de puntaje, la entrega de insignias virtuales, el uso de apodos de estatus, recompensas o roles). Por todo ello, los autores entienden que la propuesta sí se puede considerar un sistema gamificado aplicado a un entorno de educación en salud.

A nivel tecnológico se ha conseguido crear un AV funcional y automatizado, ya que el usuario prácticamente no tiene que escribir ningún comando. Esto se ha llevado a cabo con la implementación de un teclado, mostrando la lista de comandos al escribir "/" y reenviando la pregunta actual en el momento en que se deseen ver las estadísticas o la ayuda. De esta manera se pretende crear una interfaz fácil de usar para que el usuario utilice el bot con regularidad. Como se ha diseñado la estructura del AV mediante niveles, impidiendo subir de nivel sin haber completado el anterior, se tiene la seguridad de que al finalizar el juego el usuario ha contestado (correctamente o no) a todas las preguntas. Además, mediante este sistema se pueden añadir, modificar o eliminar preguntas sin necesidad de modificar la estructura de las tablas de la base de datos.

Una posible modificación sería eliminar los niveles, enviando todas las preguntas seguidas, y almacenando las respuestas de cada pregunta en otra tabla de la base de datos. Esto permitiría saber cuáles son los temas de la enfermedad que menos conoce cada usuario, pudiendo hacer más énfasis en ellos, pero tiene la limitación de que al añadir preguntas habría que modificar la estructura de la tabla de las respuestas, con lo que, a falta de un técnico manteniendo el sistema, el personal médico tendría que aprender a gestionar la base de datos.

Como línea futura principal, se plantea el desarrollo de una evaluación en un entorno real, donde usuarios con ITS pudieran probar el AV y hacer un seguimiento de los conocimientos adquiridos gracias a éste. Asimismo, se podría evaluar el efecto de la gamificación, y si resulta más beneficioso que otras formas de aprendizaje convencionales. Esta evaluación permitiría discutir las ventajas e inconvenientes de su implementación en un entorno real, así como su aplicación clínica.

Referencias

- Página web sobre VIH/SIDA de la OMS. <u>http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/es/</u> (Consultada: Agosto 2019).
- [2] Bailey JV, Murray E, Rait G, Mercer C, Morris R, Peacock R, Cassell J, Nazareth, I. Computer-based interventions for sexual health promotion: systematic review and metaanalyses. *International Journal of STD & AIDS*, vol 26, sup 6, 2012, pp 408-13 (ISSN: 0956-4624).
- [3] Seaborn K, Fels DI. Gamification in theory and action: A survey. *International Journal of Human-Computer Studies*, vol 74, 2015, pp 14-31 (ISSN: 1071-5819)
- [4] Bickmore TW, Silliman RA, Nelson K, Cheng DM, Winter M, Henault L, Paasche-Orlow MK. A randomized controlled trial of an automated exercise coach for older adults. *Journal* of the American Geriatrics Society, vol 61, sup 10, 2013, pp 1676–83 (ISSN: 1532-5415).
- [5] Duro V, Trigo JD, Etxeberría D, Arteaga M, Jarne V, Martínez C, Abínzano M, Tiberio G. Gamificación para educación en VIH a través de un asistente virtual. 40° Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI'19). Barcelona, 2019.
- [6] Deterding S, Dixon D, Khaled R, Nacke L. From game design elements to gamefulness: defining "gamification". 15° International Academic MindTrek Conference: Envisioning Future Media Environments, pp. 9–15, ACM. Tampere (Finland), 2011.
- [7] Zichermann G, Linder J. Game-based Marketing: Inspire Customer Loyalty through Rewards, Challenges, and Contests. Wiley, Hoboken, NJ, 2010. ISBN: 978-0470562239.
- [8] Cunningham C, Zichermann G. Gamification by Design: Implementing Game Mechanics in Web and Mobile Apps. O'Reilly Media, Sebastopol, CA, 2011. ISBN: 978-1449397678.
- [9] Huotari K, Hamari J. Defining gamification a service marketing perspective. 16° International Academic MindTrek Conference, pp. 17–22, ACM. Tampere (Finland), 2012.
- [10] Werbach K, Hunter D. For the Win: How Game Thinking Can Revolutionize Your Business. Wharton Digital Press, Philadelphia, PA, 2012. ISBN: 978-1613630235
Validación preliminar de un juego serio desarrollado para la estimulación cognitiva de los mayores

J.L. Moyano-Cuevas¹, F.M. Esteban Gomez¹, F.M. Sánchez Margallo², J.F. Ortega-Moran¹, V. Gilete Preciado, C. Vila-Cha⁴, E. Martinena⁵, P. Núñez Trujillo⁵, J. Blas Pagador¹

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

² Dirección científica, CCMIJU, Cáceres, España, <u>msanchez@ccmijesususon.com</u>

³Clínica Revital, Cáceres, España

⁴Intituto Politécnico de Guarda, Guarda, Portugal, <u>cvilacha@ipg.pt</u>

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

Resumen

El envejecimiento trae consigo el deterioro cognitivo de los mayores. Una de los problemas cognitivos más frecuentes es la perdida de la capacidad de realizar cálculos, imprescindible a la hora de realizar a determinadas actividades instrumentales de la vida diaria, como la de manejar dinero. Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido el desarrollo v validación preliminar de un juego serio para la estimulación cognitiva de los mayores mediante tareas de cálculo ambientadas en la acción de realizar pagos en el supermercado. El juego serio permite estimular las funciones cognitivas de cálculo y supervisión ambientado en la tarea de la vida diaria de realizar el pago en el supermercado. Para realizar una validación preliminar del juego 4 personas mayores completaron un cuestionario tras probar el juego. Todos ellos consideraron el juego serio una herramienta atractiva y fácil de usar, además de útil para su vida diaria, con puntuaciones superiores a 4 sobre 5 en todos los aspectos consultados. Aunque se trata de un estudio preliminar, podemos pensar que este juego podría ser interesante para las personas mayores y evitar el rechazo que provocan las nuevas tecnologías.

1. Introducción

Según las previsiones de organización mundial de la salud se espera que más del 20% de la población mundial en 2050 sea mayor de 60 años [1]. Esto plantea importantes retos socioeconómicos a los que la sociedad debe enfrentarse. El envejecimiento activo se ha convertido en la medida adoptada para afrontar los retos venideros e incrementar lo máximo posible la autonomía de las personas mayores mediante el retraso del deterioro tanto cognitivas como físicas.

Desde el punto de vista cognitivo, los primeros efectos de deterioro que manifiestan los mayores están directamente relacionados con la perdida de la capacidad para realizar algunas actividades instrumentales de la vida diaria. Sin embargo, existen múltiples estudios que demuestran que las personas que leen o juegan a juegos son menos propensas a padecer demencia o incluso Alzheimer [2,3]. Concretamente desde el punto de vista del cálculo, Kawashami et al [4] ponen de manifiesto el beneficio del entrenamiento con operaciones aritméticas sobre el deterioro cognitivo de los mayores. En contraposición a

este estudio, Calatayud et al [5], muestran en su trabajo como la intervención cognitiva basada entre otros en operaciones de cálculo no mejora significativamente dicha función ejecutiva frente a un grupo control. Por ello es necesario investigar nuevos métodos de intervención.

Por otro lado, algunas tareas de entrenamiento cognitivo pueden resultar repetitivas y carentes de interés, y diversos estudios proponen el uso de nuevas tecnologías para solucionar este problema [6,7]. Concretamente el uso de juegos serios ha demostrado su valor como terapia cognitiva para las personas mayores [8]. En la bibliografía se han diseñado y validado diferentes juegos que permiten estimular la estimulación cognitiva [9], siendo un ejemplo el Big Brain Academy (Nintendo) que incluye ejercicios de cálculos aritméticos genéricos para la estimulación cognitiva y contra la demencia [10]. Sin embargo, no es común que estos juegos usen tareas de cálculo centradas en actividades de la vida diaria.

Por todo ello, el objetivo de este trabajo es el diseño y la validación preliminar de un juego serio ambientado en la actividad instrumental de la vida diaria del manejo del dinero (pago en el supermercado), con el fin último de mantener la autonomía e independencia de la personas mayores.

2. Metodología

Tras una serie de entrevistas y reuniones realizadas con expertos en neuropsicología, se han definido los requisitos con los que debe contar el juego para conseguir.

Diseño del juego

El juego serio desarrollado se ha diseñado para la estimulación del control atencional ejecutivo a nivel de los procesos de memoria de trabajo y de monitorización de la ejecución. Concretamente los diferentes ejercicios que incluye el juego pretenden trabajar la capacidad de operar mentalmente y la capacidad de supervisión para detectar posibles fallos. Para ello, el mayor debe realizar una serie de pagos tras realizar la compra en el supermercado y

355

verificar que le han cobrado correctamente. El juego consta de tres fases secuenciales. En la primera, el usuario dada una cantidad a pagar, tiene que seleccionarlas monedas y billetes necesarios para alcanzar el importe total exacto requerido (Figura 1).



Figura 1. Fase 1 correspondiente al pago exacto.

En la siguiente fase, el juego le proporciona una cantidad en concepto de devolución, donde el mayor tiene que indicar si es adecuada o no y en caso de no ser adecuada arrastrar las monedas y billetes necesarios hasta completar la cantidad restante a la vuelta proporcionada por el dependiente (Fase 2).



Figura 2. Fase 2 correspondiente a la comprobación de la vuelta.

Por último, la persona mayor debe comprobar los precios del ticket de una compra con respecto a un catálogo de ofertas y comprobar si efectivamente el precio que le han cobrado es correcto (Fase 3).



Figura 3. Fase 3 correspondiente al chequeo del ticket de la compra.

Con el fin de reducir la monotonía que supone repetir siempre las mismas tareas y conseguir una mayor aceptación de los mayores, se han tenido en cuenta dos características fundamentales en el diseño de este juego serio. En primer lugar, la validez ecológica, para lo cual, el juego se ha diseñado basado en una actividad del día a día de los mayores como es hacer la compra. De esta manera, se consigue un mayor interés y aceptación por parte del mayor haciéndoles ver que es una herramienta útil en su vida diaria. En segundo lugar, la posibilidad de configurar el juego para que el profesional pueda adaptarlo en cierta manera a las necesidades de persona mayor. Con esto, el profesional puede configurar el número de veces que el usuario tiene que realizar cada fase antes de pasar a la siguiente, o la dificultad del ejercicio asociada a las cantidades a pagar o al número de elementos que configuran el ticket a revisar.

Otra de las características que incluye este juego serio, es la de proporcionar feedback al usuario al finalizar cada una de las fases del mismo, indicando si el precio es correcto o no, y el tipo de fallo que se han cometido. Para evitar la frustración del mayor, que es otro aspecto clave, el sistema también proporciona mensajes de ánimo durante la realización para que vuelva a intentarlo de nuevo (Figura 4).



Figura 4. Ejemplo del feedback propocionado por el juego al no indicar correctamente cual debería haber sido la vuelta exacta.

Implementación del juego

En la implementación de este juego serio para S.O. Android, se ha utilizado Unity 3D (C#, Visual Studio 2017), siguiendo las recomendaciones de diseño establecidas en estudios previos [11]. En este sentido, el interfaz del juego ha sido diseñado teniendo en cuenta que el público objetivo son personas mayores con un nivel de deterioro cognitivo leve y adaptado a sus necesidades. Se ha intentado incluir la mínima información necesaria de una forma clara y concisa, que permita al mayor comprender el objetivo del juego. Además, las reglas del juego se han centrado en los diferentes tipos de restricciones que plantea fase del juego. Desde el punto de vista de la interacción con el usuario, el juego ha sido diseñado para su uso en Tablet, va que se trata de una interacción más natural que otros métodos como el uso del teclado y el ratón, facilitando por tanto la aceptación de los mayores [12].

Validación

Se diseñó una validación aparente del juego serio en la cual participaron 4 personas mayores, procedentes de la asociación de Amigos del Centro de Cirugía de Mínima Invasión, en cuyas instalaciones se ha realizado las pruebas. El criterio para reclutar estas personas fue que no tuvieran deterioro cognitivo pero que fueran mayores de 70 años. Tras una explicación de las funcionalidades y los objetivos, los participantes probaron el juego serio hasta completar todas las fases del mismo. A la finalización de este, todos los participantes completaron un cuestionario donde reflejaron su opinión relativa a diferentes aspectos del juego. Dicho cuestionario consto de un bloque de preguntas relativas a la demografía y otro bloque con aspectos de jugabilidad. El tipo de cuestiones incluidas son una escala Likert de 5 valores (1- valor mínimo, 5-valor máximo). Para el análisis de las respuestas proporcionadas por los participantes se usó un análisis descriptivo y de frecuencia.

Edad	74,28 ± 3.2
Sexo	Mujeres: 2
	Hombres: 2
Nivel de estudios	Todos secundarios
Experiencia en el uso de Smartphone	A diario en todos los casos

Tabla 1 Datos demográficos de los participantes

3. Resultados

4 personas (dos hombres y dos mujeres) con una edad media de 74,2 años (71-78 años) participaron en el estudio (Tabla 1). Cabe destacar que todas ellas poseen estudios superiores y hacen uso del móvil en su vida diaria. Respecto al bloque relativo a la jugabilidad del sistema, la Figura 5, muestra las opiniones de los participantes. Todas las cuestiones evaluadas fueron valoradas muy positivamente obteniendo puntuaciones medias superiores a 4 sobre 5. Los aspectos mejor valorados fueron la aceptación y su interés en la temática del juego. Aunque los aspectos que obtuvieron menor puntuación fueron la utilidad y la facilidad para leer las instrucciones, son también muy bien valorados ya que las puntuaciones medias fueron superiores a 4 sobre 5.

Por último, a la pregunta si jugarían a este juego en su día a día todos los participantes coincidieron en que los usarían, lo cual hace pensar que el juego puede resultar atractivo y entretenido para las personas mayores.

4. Conclusión

El objetivo de este trabajo ha sido validar un juego serio desarrollado para la estimulación cognitiva de las personas mayores mediante la realización de ejercicios de cálculo y monitorización, claves en tareas como realizar pagos en tiendas. Tras el análisis de los cuestionarios los participantes manifestaron muy buena aceptación del juego, considerando la temática interesante y útil para la estimulación mental, con lo cual podemos pensar a priori que el juego podría tener buena aceptación entre las personas mayores, aunque es necesario ampliar el estudio con mayor número de participantes en el que se incluyan personas de diferentes niveles culturales, con diferentes experiencias en el uso de dispositivos táctiles, así como personas que presenten deterioro cognitivo.

Por otro lado, en la bibliografía se han descrito los beneficios que supone el empleo de la Tablet para la estimulación cognitiva [13], pero a su vez también han sido descritos el rechazo y las barreras que suponen para las personas mayores el empleo de estas tecnologías [14]. En este sentido, los resultados obtenidos en el estudio indican que el juego es fácil de usar y comprender. Sin embargo, son conclusiones preliminares ya que los participantes del estudio usan Smartphone en su vida diaria, lo cual reduce en gran medida el rechazo que supone la tecnología

En conclusión, a la luz de los resultados preliminares obtenidos, podemos pensar el juego serio podría ser ampliamente aceptado por los mayores y, por tanto, convertirse en una herramienta para contribuir en el retraso de su deterioro e incrementar su independencia.



Figura 5. Opinión de los usuarios relativas a la jugabilidad

5. Referencias

[1] United Nations. World population ageing 2013. New York, NY: United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, ST/ESA/SER.A/348. 2013.

[2] Wilson RS, Mendes De Leon CF, Barnes LL, et al. Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *Jama*. vol 287, 2002, pp 742–8.

[3] Verghese J, Lipton RB, Katz MJ, et al. Leisure activities and the risk of dementia in the elderly. *N Engl J Med*, vol 348,2003, pp 2508–2516

[4] Kawashima R, Okita K, Yamazaki R, et al. Reading aloud and arithmetic calculation improve frontal function of people with dementia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, vol 60, pp 380–384.

[5] Calatayud E, Plob F, Muroc C. Análisis del efecto de un programa de estimulación cognitiva en personas con envejecimiento normal en Atención Primaria: ensayo clínico. *Atencion primaria*, 2018 doi: 10.1016/j.aprim.2018.09.007

[6] J. Van 'T Riet, R. Crutzen, And A. Shirong Lu, How Effective Are Active Videogames Among the Young and the Old? Adding Meta-analyses to Two Recent Systematic Reviews, *Games Health J.* 2014, vol 3, sup 5 pp 311–318.

[7] Marston TR, Freeman S, Bishop KA, and Beech CL, A Scoping Review of Digital Gaming Research Involving Older Adults Aged 85 and Older. *Games Health J.*, 2016 vol 5, sup 3, pp 157-74

[8] Wouters, P., van Nimwegen, C., van Oostendorp, H., & van der Spek, E. D. A meta-analysis of the cognitive and

motivational effects of serious games. *Journal of Educational Psychology*, vol 105, sup 2, pp 249-265.

[9] McCallum, S., & Boletsis, C. Dementia Games: A Literature Review of Dementia-Related Serious Games. *Lecture Notes in Computer Science*, 2013, pp 15–27.

[10] Fernandez-Calvo B, Rodriguez-Perez R, Contador, I., Rubio-Santorum A, Ramos, F. Efficacy of cognitive training programs based on new software technologies in patients with Alzheimer- Type dementia. *Psicothema* vol 23, sup 1, 2011, pp 44–50

[11] Ben-Sadoun G, Manera V, Alvarez J, Sacco G, Robert P. Recommendations for the Design of Serious Games in Neurodegenerative Diseases. *Front Aging Neurosci*. Vol 10, sup 13, 2018.

[12] Hollinworth, N. Improving computer interaction for older adults. In SIGACCESS Accessibility and Computing Newsletter, ACM (New York, NY, USA), 2009, pp 11–17

[13] Chan MY, Haber S, Drew LM., Park DC. Training older adults to use tablet computers: Does it enhance cognitive function? *Gerontologist*, vol 56, 2016, pp 475–484

[14] Heinz M, Martin P, Margrett JA, Yearns M, Franke W, Yang HI., et al. Perceptions of technology among older adults. *J. Gerontol. Nurs.* Vol 39, 2013, pp 42–51

Sistema para la atención al paciente en ingresos hospitalarios

N. Salazar García¹, D. Marcos Jorquera², D. Ruiz Fernández²

¹Universidad de Alicante, Alicante, España, nsg32@alu.ua.es

² Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, Alicante, España, {dmarcos, druiz}@dtic.ua.es

Resumen

Si bien en muchos ámbitos de la salud las nuevas tecnologías están aportando soluciones que mejoran sustancialmente los procedimientos sanitarios, en el caso de los ingresos hospitalarios, donde el nivel de asistencia al paciente suele ser muy elevado, la penetración de la tecnología es muy baja. En este trabajo se propone un nuevo sistema de interacción entre paciente y profesional para los ingresos hospitalarios basado en una aplicación móvil usada desde el smartphone del paciente o de los acompañantes. Mediante la aplicación, el usuario podrá enviar avisos a enfermería, gestionar la medicación a tomar y las pruebas a realizar o seleccionar el menú diario. Con ello se pretende agilizar los procedimientos, establecer una canal de comunicación directo entre paciente y profesionales, mejorar la calidad de vida del ingresado y empoderar al paciente en su tratamiento.

1. Introducción

La salud es sin duda alguna una de las principales preocupaciones de la sociedad actual. Según una encuesta de julio de 2019 del Centro de Investigaciones Sociológicas (CIS) de España, la sanidad es, para un 15,8% de los encuestados, uno de los tres problemas principales que existen actualmente en España, ocupando la quinta posición de la lista [1]. Por ello, se busca conseguir, cada vez más, una mayor satisfacción del paciente en la asistencia recibida. Muchas veces, esta calidad en la atención no se alcanza, debido al elevado número de ingresos hospitalarios y necesidades de asistencia, que acaban saturando los servicios sanitarios. Según el Instituto Nacional de Estadística (INE), en España el número de altas hospitalarias aumentó un 0.4% en 2017, situándose en 10.449 altas por cada 100.000 habitantes [2].

Actualmente, los pacientes no solamente buscan una solución a su problema de salud, buscan comprender, obtener más información, y llevar un seguimiento más exhaustivo de su proceso de recuperación. En definitiva, los pacientes requieren de una comunicación más directa con los profesionales sanitarios que los atienden. Una manera de alcanzar esta interacción es a través de las nuevas tecnologías, que cada vez utilizan más usuarios. Sin embargo, las actuales infraestructuras hospitalarias no ven reflejado en ellas este uso de las nuevas tecnologías a su favor.

En la actualidad existen diversas apps que buscan aportar información sobre los datos de salud de un paciente: gestión de citas, visualización del historial médico, visualización de pruebas realizadas, etc. En general las aplicaciones para pacientes actuales no se centran tanto en los ingresos hospitalarios, si no en aportar información y servicios relacionados con la atención primaria. A continuación, se citan alguno de estos sistemas.

IMED Hospitales [3] permite acceder a la información médica de un paciente de forma cómoda, rápida y segura, permitiendo acciones como: petición y gestión de citas, aviso de acceso a consulta desde la sala de espera, solicitud de ambulancia con geoposicionamiento, consulta de la historia clínica, o descarga de documentos asociados a su actividad en salud.

Hospital U. Rey Juan Carlos [4] es una aplicación similar a la ofrecida por los hospitales IMED. Las funcionalidades principales son las mismas previamente mencionadas, aunque incluye novedades como: la comunicación directa con el médico, recordatorios de las citas concertadas, o localización de farmacias cercanas.

Portal del Paciente [5], de la misma forma que las dos anteriores, es una aplicación empleada por el Servicio Murciano de Salud para la gestión de citas, recetas, o historial clínico por parte de los pacientes.

Centrándonos en los ingresos hospitalarios, la Conselleria de sanidad de la Comunidad Valenciana ha puesto en marcha una aplicación móvil [6] cuyo objetivo principal es "facilitar a los acompañantes el seguimiento quirúrgico del paciente intervenido, ofreciendo información en tiempo real y disminuyendo posibles estados de ansiedad".

Como se puede observar, la mayoría de las aplicaciones relacionadas con la salud y desarrolladas por y para un determinado sistema o institución sanitaria, buscan una gestión de las citas, las recetas y los documentos, así como la consulta de los datos de salud del paciente. Aunque algunas de ellas incluyen una interacción directa con el médico de cabecera del paciente en cuestión, ninguna incluye una interacción con el personal sanitario dentro de un ingreso hospitalario.

Es por ello que, este proyecto, busca alcanzar esta mejora en la asistencia gracias a una relación más interactiva entre paciente y profesional. En concreto, en este trabajo se propone una solución tecnológica al problema presentado, diseñando un nuevo sistema que incluye una aplicación móvil para el paciente y una aplicación para el profesional, de forma que se consiga una interactuación directa y eficaz entre ambos durante el ingreso hospitalario.

359

2. Propuesta

El sistema que se propone busca la mejora de la asistencia a pacientes ingresados en el hospital. El objetivo principal del trabajo es el establecimiento de una comunicación directa entre los pacientes y los profesionales sanitarios que permita agilizar y mejorar los procedimientos habituales llevados a cabo durante un ingreso hospitalario.

Para ello se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- Permitir que el paciente y sus acompañantes se involucren de una manera más activa y personalizada durante el periodo de ingreso hospitalario, pudiendo visualizar, en todo momento, la información y los procedimientos asociados en su estancia. Con ello se pretende empoderar al paciente en todo lo referente a su enfermedad.
- Mejorar la calidad de vida del paciente durante su estancia.
- Mejorar el proceso de atención al paciente, aportando supervisión y personalización en el proceso.
- Mejorar los tiempos de asistencia al paciente.
- Evitar los errores en los procesos asociados al ingreso, como toma de medicación o selección de menús condicionado a la dieta y las alergias del paciente.
- Tener un mejor control y seguimiento sobre las acciones realizadas por los pacientes y los profesionales sanitarios

2.1. Requerimientos funcionales

Para alcanzar los objetivos propuestos, se han establecido una serie de requerimientos funcionales (ver figura 1) enfocados interacción paciente-profesional que son los siguientes:

- La funcionalidad principal del sistema propuesto es la creación de avisos por parte de los pacientes, que serán recibidos por los profesionales para que su gestión y realización se realice de una forma más rápida, eficaz y personalizada. Los avisos podrán ser de varios tipos: alertas urgentes para que acuda un profesional lo antes posible (similar a los pulsadores de llamada actual que existen en los hospitales), solicitud de algún tipo de material (compresas, toallas, sábanas...), etc. Con el objetivo de mejorar la gestión de los avisos, estos serán categorizados en distintas secciones.
- Llevar un registro y seguimiento de la medicación establecida para el paciente. Se podrán establecer, por cada medicación, toda la información necesaria para su correcta administración, la dosis a administrar, la forma de realizarlo, la periodicidad, etc., de forma que pacientes, acompañantes y profesionales lleven un control integral de la medicación establecida y administrada en cada momento.
- Llevar un registro y seguimiento de las pruebas que el paciente debe de realizar. Al igual que con la medicación, se podrán planificar las distintas pruebas, identificando claramente cuando y donde se realizarán, y todos los requerimientos previos a la

misma (por ejemplo, no tomar determinados alimentos o estar en ayunas).

- Llevar un registro de las alergias del paciente que ayude a los profesionales en la prescripción de determinados medicamentos o en la confección de la dieta.
- Gestión de la dieta. Los profesionales podrán establecer el tipo de dieta que el paciente requiere (como por ejemplo si necesita una dieta blanda) y, gracias a contar con un registro de las alergias del paciente, se podrá diseñar de forma personalizada el tipo de menú que se le ofrece al paciente. Por otra parte, el paciente podrá seleccionar, de entre los posibles menús que se le ofertan, cual es el que prefiere cada día.



Figura 1. Modelo de interacción paciente - profesional

La interacción por parte del paciente (o de sus acompañantes) se realizará mediante una aplicación móvil lanzada desde su teléfono móvil personal. Es en esta aplicación donde el usuario podrá crear avisos, consultar medicación y pruebas, registrar la toma de medicamentos, seleccionar el menú que desea cada día, etc.

Por otra parte, los profesionales contarán con su propia aplicación, en este caso puede estar situada en un móvil o en otro dispositivo como tabletas u ordenadores personales, desde la que gestionarán los avisos, la medicación o las pruebas.

2.2. Arquitectura del sistema

Para hacer viable la propuesta, se ha decidido que tanto la aplicación del paciente como la aplicación del profesional, estén realizadas con tecnología web, lo cual aporta como ventaja: la independencia del hardware y sistema operativo del equipo, ya que sólo necesita un navegador, su fácil gestión y mantenimiento, ya que está centralizado en un servidor web, y facilita el uso de las aplicaciones desde cualquier sitio con conexión a Internet, con lo que por ejemplo un familiar del paciente ingresado podría desde fuera del hospital realizar un seguimiento sobre los procesos (medicación, pruebas, alimentación...) del paciente. Además, una vez realizadas las aplicaciones web, estas son fácilmente transportables a aplicaciones móviles mediante el uso de plataformas de aplicaciones híbridas.

Las aplicaciones han sido desarrolladas siguiendo una arquitectura basada en servicios (ver figura 2), mediante el uso de servicios REST. El uso de este estilo arquitectónico aporta características fundamentales al sistema propuesto como son:

- Bajo acoplamiento entre clientes y servidor
- Basado en estándares como HTTP(S) que permite la creación de interfaces uniformes
- Permite desarrollar en diversas plataformas y lenguajes
- Interoperabilidad mediante el uso de estándares de codificación como XML o JSON
- Reusabilidad de los servicios
- Creación de servicios ligeros
- Servicios sin estado que potencian la escalabilidad



Figura 2. Arquitectura del sistema propuesto

Mediante el API REST las aplicaciones cliente pueden acceder al sistema de información almacenada en el servidor.

Para la gestión de los avisos, y dado que necesitamos que estos sean alertados de forma inmediata en la aplicación de los profesionales, se ha decidido incorporar la tecnología estándar WebSocket, que permite establecer una comunicación constante y bidireccional entre los clientes y el servidor.

Para el servidor se ha optado por usar una plataforma basada en NodeJS. Node es un motor en tiempo de ejecución multiplataforma que permite la creación de aplicaciones y servicios escritos en Javascript. Para el sistema de información se ha optado por un servidor de base de datos MariaDB, un *fork* del motor de MySQL. Nótese que, si bien en la arquitectura el servidor de aplicación y el de base de datos están situados físicamente en el mismo equipo, si se decidiera por temas de seguridad o rendimiento, estos podrían estar perfectamente situados en equipos distintos.

Para el desarrollo de los servicios se han utilizado tres módulos de NodeJS: *mysql* (versión 2.17.1), para el acceso

a la base de datos, *express* (versión 4.17.1), un framework para la creación de aplicaciones y servicios web, y *websocket* (versión 1.0.30), un módulo que implementa un servidor de WebSockets.

Para el desarrollo de los clientes se han utilizado los APIs estándares que incorporan los navegadores actuales: *XMLHttpRequest*, para la invocación de servicios, y *WebSocket*. Para la creación de interfaces adaptables, se ha utilizado el framework de CSS *Materialize*.

2.3. Definición de servicios

Dado que la arquitectura está basada en servicios REST uno de los aspectos fundamentales en el diseño del sistema en la definición del API de servicios que se va a utilizar.

Para su confección se han utilizado los cuatro métodos básicos de HTTP: GET para realizar consultas sobre los recursos, POST para crear nuevos recursos, PUT para actualizar un recurso, y DELETE para eliminar un recurso.

En la tabla 1 se puede ver un resumen del API definido para el servicio de atención a pacientes en ingresos hospitalarios, con los principales recursos que lo conforman y los métodos implementados por cada uno.

3. Prototipo

Una vez definido el diseño del sistema, para validar su viabilidad se ha desarrollado un prototipo de la funcionalidad completa sistema, incluyendo el servidor, la aplicación del paciente (figura 3) y la aplicación del profesional (figura 4), que permita garantizar el cumplimiento de los requerimientos funcionales.

=	pickcalls	Mis avisos			
Mi medicaciór	ı	SIN ATENDER	ATENDIDOS	TODOS	
POR ADMINISTRAR ADMINISTRADA	TODA	Aviso		Tiempo de espera	
Medicación		-			
Tipo de medicación: Ibuprofeno 600mg Enfermero que asigna: SUSANA DE LA TORRE RA Administración: Periodica	MOS	Urgente Hora aviso: 12:41		0 min	ELIMINAR
Via de administración: Oral Vigencia: 09-08-2019 17:28 - 24-08-2019 18:10 Periodicidad: Cada 12 horas		Titulo: No me sient algo	o bien: Me duele		_
Tipo de medicación: Ciclochem crema Enfermero que asigna: SUSANA DE LA TORRE RA Administración: Penodica	Mos	Hora aviso: 12:38 Comentario: me du cabeza y no paro de	ele mucho la tiritar	2 min	ELIMINAR
Vigencia: 14-08-2019 13:57 - 31-08-2019 13:57 Periodicidad: Cada 2 días		El aviso de urgencia atenderá lo antes p	a se ha creado cor osible.	rectamente. Un	enfermero le

Figura 3. Capturas de pantalla de la aplicación del cliente

Para el prototipo se han definido 33 tipos de avisos, estructurados en seis categorías:

- Urgente: con avisos de asistencia urgentes.
- Higiene: con avisos sobre manchas, vómitos, incidencias en el baño...
- Roturas / Malfuncionamiento: indicando problemas con el mobiliario, indumentaria, dispositivos médicos...
- Solicitud de material: requerimientos de pañales, cuñas, ropa de cama...
- Necesito ayuda: solicitud de ayuda en cuanto a asistencia al baño, uso de dispositivos, medicación...
- Quejas o toques de atención: comida que no llega, problemas con el compañero, temperatura...

Recurso	GET	POST	PUT	DELETE
/api/pacientes	٠	•		
/api/pacientes/:id	٠		•	٠
/api/pacientes/login		٠		
/api/pacientes/:id/ingresos	•	٠		
/api/ingresos/:id	•		•	٠
/api/ingresos/:id/pruebas	•	•		
/api/pruebas/:id	٠		•	•
/api/tipoprueba	•	•		
/api/tipoprueba/:id	٠		•	•
/api/ingresos/:id/medicacion	•	٠		
/api/medicacion/:id	•		٠	٠
/api/tipomedicacion	•	٠		
/api/tipomedicacion/:id	•	•	•	٠
/api/medicacion/:id/tomas	•	•		
/api/tomas/:id	•		•	٠
/api/ingresos/:id/alergias	•	٠		
/api/alergias/:id	•		•	٠
/api/tipoalergias	•	•		
/api/tipoalergias/:id	•		•	٠
/api/avisos	•			
/api/ingreso/:id/avisos	•	•		
/api/avisos/:id	•		٠	٠
/api/tipoavisos	•	•		
/api/tipoavisos/:id	•		٠	٠
/api/categorias	•	•		
/api/categorias/:id	•		•	•
/api/categorias/:id/tipoavisos	•	•		
/api/profesionales	•	•		
/api/profesionales/login		•		
/api/profesionales/:id	٠		•	•
/api/profesionales/:id/avisos	٠			

 Tabla 1. API REST del servicio de atención a pacientes en ingresos hospitalarios

La aplicación del paciente ha sido probada funcionalmente en diversos dispositivos móviles, tanto con sistema operativo Android como IOS, y en diversos navegador, Chrome, Firefox y Safari. La aplicación de los profesionales, además de en dispositivos móviles, también ha sido evaluada en otros tipos de dispositivos, como tablets y PCs, para validar su compatibilidad en pantallas más grandes.

Habitación	Aviso	Hora del aviso	Tiempo de espera	Elige la m múltiple a	iedicación a crear
304		12:41	0 min	PUNTUAL PERIÓDICA	MÜLTIPLE
304	Titulo: No me siento bien: Me duele algo Comentario del paciente: me duele mucho la cabeza y no paro de tiritar	12:38	2 min	Va de administración Oral Medicación Ibuprofeno 600mg	•
				Fecha de administración: 11-09-2019	Hora de Inicio: 13:20

Figura 4. Capturas de pantalla de la aplicación del profesional

4. Conclusiones

En el presente trabajo se ha puesto de relieve la falta de herramientas tecnologías que asistan al paciente y mejoren su comunicación con los profesionales de la salud en los ingresos hospitalarios. Para solventar el problema se ha propuesto un sistema basado en dos aplicaciones, una para paciente y otra para profesionales, que permitan asistir todos los procesos que se dan durante el ingreso.

La propuesta de una arquitectura basada en servicios REST y complementada con WebSockets para los avisos instantáneos, así como la confección de un prototipo a permitido validar la viabilidad de la propuesta.

No obstante, es fundamental la puesta en marcha en un entorno sanitario real, integrando estas aplicaciones dentro del sistema de gestión hospitalario. Esta integración permitiría además una gestión más integral en la relación con el paciente, pudiendo incorporar otros servicios del hospital como lavandería, cocina o gerencia.

Referencias

- [1] Centro de Investigaciones Sociológicas (CIS). Tres problemas principales que existen actualmente en España (Multirrespuesta %). http://www.cis.es/cis/export/sites/default/-Archivos/Indicadores/documentos_html/TresProblemas.ht ml (Consultada: Septiembre 2019).
- [2] Instituto Nacional de Estadística. Encuesta de Morbilidad Hospitalaria. https://www.ine.es/prensa/emh_2017.pdf (Consultada: Septiembre 2019).
- [3] Google Play. IMED Hospitales (App pacientes). https://play.google.com/store/apps/details?id=com.intecsal. imedapp&hl=es (Consultada: Septiembre 2019).
- [4] Google Play. Hospital U. Rey Juan Carlos. https://play.google.com/store/apps/details?id=com.divisait. hospitalreyjuancarlos&hl (Consultada: Septiembre 2019).
- [5] Google Play. Portal del Paciente. https://play.google.com/store/apps/details?id=es.carm.sms. portaldelpacienteapp&hl (Consultada: Septiembre 2019).
- [6] Economía 3. Hospitales valencianos usan una app para el seguimiento de pacientes operados. https://economia3.com/2019/07/21/211912-hospitalesvalencianos-usan-una-app-para-el-seguimiento-depacientes-operados/ (Consultada: Septiembre 2019).

Localización de pacientes de la UCI en un complejo hospitalario con múltiples edificios conectados por túneles

J. D. Trigo Vilaseca^{1,2}, H. Klaina³, I. Picallo Guembe^{1,2}, P. López-Iturri^{1,2}, J. J. Astrain Escola^{2,4}, F. J. Falcone Lanas^{1,2}, L. Serrano-Arriezu^{1,2}

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica Electrónica y de Comunicación, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, {jesusdaniel.trigo, imanol.picallo, peio.lopez, francisco.falcone, lserrano}@unavarra.es

² Instituto de Smart Cities, Pamplona, Navarra

³ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Vigo, Galicia, hklaina@uvigo.es

⁴ Departamento de Estadística, Informática y Matemáticas, UPNA, Pamplona, Navarra, josej.astrain@unavarra.es

Resumen

Los pacientes ingresados en la Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) son trasladados desde y hacia otras unidades. Conocer su localización es clave para una buena planificación de los transportes intrahospitalarios, sobretodo en grandes complejos hospitalarios, ya que constan de varios edificios, a menudo conectados por túneles. En este trabajo se presenta un estudio de cobertura y una aplicación de seguimiento de pacientes en el Complejo Hospitalario de Navarra, basada en LoRa en NFC. Del estudio de cobertura se concluye que un único gateway LoRa es suficiente para cubrir las motas localizadas por encima del nivel del suelo. Si quisiese dar cobertura a las motas subterráneas, sería necesario colocar dos gateways LoRa. Por otro lado, la aplicación de seguimiento de pacientes permite tener localizados de manera remota y segura a los pacientes de la UCI que se desplazan a distintas unidades médicas del complejo.

1. Introducción

Los pacientes ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) requieren vigilancia y cuidados constantes, generalmente a causa de una insuficiencia orgánica (ya sea establecida o un riesgo de la misma) [1]. Aunque su situación es crítica, las patologías que sufren son potencialmente recuperables. Después del ingreso en un centro hospitalario, los pacientes pueden ser transferidos de una unidad a otra dependiendo de sus necesidades. En concreto, los pacientes de la UCI son un ejemplo de la necesidad de transporte hospitalario, ya sea en el momento del ingreso en la unidad, el alta o para transportes de ida y vuelta a otros servicios.

En un estudio multicéntrico (307 UCIs) e internacional (35 países), con un tamaño muestral de casi 20000 pacientes, se analizaron los orígenes y destinos de los pacientes que causaban alta o baja en la UCI [2]. La fuente de ingreso a la UCI suele ser el mismo hospital (71,9%), siendo el quirófano (27,6%), urgencias (19,8%) y la planta (13,0%) los más relevantes. Cuando abandonan la UCI, la gran mayoría de los pacientes permanecen en el mismo hospital (74,3%). En concreto, casi la mitad son trasladados a la planta (45,5%), aunque un porcentaje considerable (8,3%) son trasladados a una Unidad de Cuidados Intermedios o a la Unidad de Alta Dependencia (UCI/UDH), donde pueden permanecer bajo estrecha vigilancia.

Además de los traslados por ingreso o alta, los pacientes de la UCI suelen requerir traslados de ida y vuelta a otras unidades por razones diagnósticas o terapéuticas [3]. En un estudio con más de 1000 pacientes de UCI, se analizaron los transportes (de ida y vuelta) desde la UCI a un destino intrahospitalario [4]. El 44% de los pacientes ingresados en la UCI requirieron al menos un viaje de ida y vuelta a otra unidad (45% de esos, dos o más transportes). Considerando todos los transportes (n=800), el 55% fueron con destino a una Tomografía Computarizada (TC), el 16% a radiología, el 15% al quirófano, el 4% a resonancia, el 4% a radioterapia y el 6% restante a otros lugares, como la Tomografía por Emisión de Positrones (PET), radiología general o medicina nuclear.

En este contexto de movilidad de los pacientes ingresados en la UCI, conocer su localización es clave para una buena planificación de los transportes intrahospitalarios, una coordinación eficiente entre unidades y, en definitiva, una asistencia sanitaria más segura [5]. Naturalmente, esto es aún más importante en grandes complejos hospitalarios, que cubren amplias áreas y que constan de varios edificios. Además, en estos grandes complejos, los edificios pueden conectarse a través de túneles subterráneos para facilitar el transporte intrahospitalario de pacientes y equipamiento.

Se sabe que los sistemas automatizados de seguimiento de pacientes son más rápidos y precisos que las anotaciones manuales [6]. Para crear aplicaciones automatizadas de seguimiento de pacientes, se han descrito recientemente en la literatura sistemas que combinan el uso de sensores con tecnologías inalámbricas de corto alcance, tales como Wi-Fi [7], *Radio Frequency Identification* (RFID) [8] o *Bluetooth Low Energy* (BLE) [9]. Además, en este contexto actual del paradigma *Internet of Medical Things* (IoMT), existe una oportunidad para crear sistemas híbridos de pasarela hacia la nube basados en tecnologías emergentes inalámbricas de largo alcance, como *Long Range* (LoRa) [10].

Por todo lo anterior, en este trabajo se presenta un estudio de cobertura y una aplicación de seguimiento de pacientes en un complejo hospitalario de varios edificios conectados mediante túneles, tomando como base tecnologías inalámbricas de largo alcance (LoRa) y de corto alcance (*Near-Field Communication*, NFC). Como escenario de

uso, este proyecto se ha llevado a cabo en el Complejo Hospitalario de Navarra (CHN). Los objetivos principales son dos: en primer lugar, determinar cuántos gateways (GW) LoRa serían necesarios y dónde habría que ubicarlos para proporcionar cobertura radioeléctrica en una aplicación de seguimiento de pacientes en el CHN. En segundo lugar, diseñar y desarrollar dicha aplicación.

2. Material y métodos

2.1. Escenario: el Complejo Hospitalario de Navarra

El CHN, situado en Pamplona, es el hospital de referencia de Navarra. Está compuesto por 27 edificios, cubriendo un área de aproximadamente 200000 m². Hay más de 1000 camas distribuidas en dos grandes edificios (llamados H y HVC), que a su vez están formados por una serie de pabellones. En la Figura 1 se muestra un mapa esquemático del CHN. En la Tabla 1 se enumeran los edificios y pabellones, así como los servicios que se encuentran en su interior. Los equipos médicos de diagnóstico se distribuyen por todo el complejo, pero se ubican principalmente en los edificios RX, ER, J, C y HVC. Cabe destacar que aquellos edificios con equipos radiológicos requieren muros con un aislamiento adecuado, lo cual afecta a la cobertura radio de la aplicación a diseñar.

Como se puede ver en la Figura 1, algunos edificios están conectados directamente. Sin embargo, la mayoría están conectados a través de túneles subterráneos. En la Figura 1 se muestra la red principal de túneles del CHN. Los túneles de la red principal son más anchos y conectan los edificios más importantes del complejo. Existe otra subred de túneles secundarios que conectan el resto de edificios, pero son más estrechos. Por esto, las camillas con pacientes circulan habitualmente por los túneles principales.



Figura 1. Vista esquemática del CHN, sus edificios, los túneles principales las posiciones de las motas (x) y GW (o).

Nombre	Servicio	Nombre	Servicio
HVC	Planta Hospital. (general) Cirugía Ginecología Genética Neurofisiología	В	Hospital de día Unidad del dolor Neurofisiología Urología Post-anestésica Medicina nuclear Consultas
Н	Planta Hospital. (cirugía) Hospital. (interna) Quirófano	МС	Materno-infantil Pediatría UCI pediátrica Neonatología
С	UCI Hospital. (hematología) Hospital. (oncología) Hospital de día Oncología Endoscopias	D	Hospital. (cardíaca) Hospital. (digestivo) Unidad coronaria Hemodinámica Cardiología
М	Psiquiatría Salud laboral Riesgos laborales Atención a la mujer	Е	Infecciosas Ictus Geriatría Psiquiatría
ER	Urgencias Sala de Observación Helipuerto	J	Oncología Radioterapia Nefrología
N	Quirófano Hospital. (cirugía) Hospital. (interna)	W	Drogodependencia Hospital de día
L	Microbiología Farmacia	CIB	Investigación Laboratorio
RX	Radiología	Α	Hematología
F	Anatomía patológica	U	Universidad
EC	Consultas externas	G	Dirección
BB	Banco de sangre	Т	Docencia
R+D	Investigación	S	Escuela
<u> I </u>	Iglesia	K	Cafetería
BL	Administración		

Tabla 1. Edificios del CHN y sus unidades o servicios

2.2. Material

La solución LoRaWAN permite distancias relativamente largas y niveles de sensibilidad de dispositivos muy bajos, de hasta -148 dBm, siendo adecuada para este escenario. Para la realización de las medidas se han utilizado los nodos y GW de "Things Node Network" (TTN) a la frecuencia de trabajo de 868 MHz (Figura 2). Los nodos elegidos son "The Things Uno", una placa de desarrollo basada en Arduino Leonardo que integra un módulo LoRaWAN y es compatible con el *shield* NFC v2.0, circunstancia que se ha aprovechado para dotar al sistema de conectividad NFC (con un rango de hasta 10 cm). El GW es un TTN-GW-868, que convierte paquetes RF en paquetes IP para visualizarlos en la aplicación Cayenne. Este es un software diseñado para crear proyectos IoT y poder testearlos antes de llevarlo a producción.



Figura 2. Nodo (i) y GW (d) TTN utilizados en las medidas.

El sistema de información se ha construido sobre una infraestructura *cloud* privada Apache CloudStack. Aunque soporta Amazon Web Services (AWS), se ha optado por una solución 100% privada para garantizar la adecuada custodia de los datos por tratarse de información especialmente sensible según el RGPD en vigor.

La Figura 3 muestra la infraestructura hardware que aloja el sistema de información. A la izquierda se observan el sistema de alimentación ininterrumpida (SAI) y los equipos de cómputo, y en la parte de la derecha, el sistema de almacenamiento (parte superior) y la electrónica de red (parte inferior). Todo el sistema está virtualizado sobre VMware ESXI y VMware vSphere para poder disponer de distintas instancias sobre una misma infraestructura hardware y así poder adaptar el sistema de información a las necesidades de uso bajo demanda.



Figura 3. Infraestructura hardware sobre la que opera la cloud privada que aloja el sistema de información.

Dado el celo necesario para trabajar con datos referentes a pacientes y personal sanitario, se ha optado por emplear identidades de usuario temporales (IUTs). Aunque se custodia en todo momento la información referente a la ubicación de cada usuario, no se manipula directamente. De esta manera, aunque la herramienta de seguimiento pueda conocer los flujos de movimiento agregados, o incluso pueda discriminar por tipo de usuario (paciente, especialista, celador...), no puede conocer directamente su identidad. En caso de necesidad, el sistema puede identificar unívocamente al usuario, dado que almacena la relación entre los usuarios y los IUTs que se les van asignando a lo largo del tiempo. Este funcionamiento es similar al seguido por UMTS en la comunicación móvil.

2.3. Métodos

En primer lugar, se eligieron las ubicaciones en las que se instalarán los sensores. La decisión se basó en varios factores: (a) el tipo de pacientes a monitorizar (pacientes de UCI), (b) los servicios desde los que son admitidos o a los que son dados de alta [2], (c) los servicios a los que hacen viajes de ida y vuelta [4], (d) la disposición de los edificios en el mapa (Figura 1), (e) la ruta que los pacientes realizarían (por encima y por debajo del nivel del suelo) para viajar desde esos destinos a la UCI o de vuelta (Figura 1), y (f) el equipamiento médico disponible en los diferentes edificios. Basándose en todo esto, se seleccionaron ocho ubicaciones, seis de ellas sobre el terreno y dos subterráneas (marcas "x" en la Figura 1). En segundo lugar, se desplegaron las motas LoRa en dichos puntos, se encendieron y se configuraron para emitir balizas cada pocos segundos. En tercer lugar, un GW LoRa se fue desplazando por diferentes puntos estratégicos para encontrar ubicaciones las con mejor cobertura radioeléctrica (marcas "o" en la Figura 1), incluyendo los edificios H, EC, D, G y ER. La potencia y el número de paquetes recibidos en cada ubicación del GW LoRa se registraron y almacenaron para su posterior análisis. Según los resultados de este paso, se elegirá la posición final de la(s) pasarela(s) (véase la sección 3.1). Finalmente, una vez establecida la ubicación de la(s) pasarela(s), se diseñó y desarrolló la aplicación de seguimiento de pacientes (Sección 3.2). Se realizaron pruebas de campo con brazaletes NFC con voluntarios.

3. Resultados

3.1. Medidas de cobertura

De las diferentes ubicaciones probadas para el GW, en la Figura 4 se observan dos con las que se cubren todos los nodos a nivel de señal recibida; en el edificio H y EC. Para la primera, no se alcanzan los nodos de los túneles principalmente por las diferencias de altura entre el GW (2^a planta) y nodos (subsuelo) además de la inherente dificultad radioeléctrica asociada al propio entorno de propagación. Para la segunda, el único nodo fuera de alcance es el del edificio C debido nuevamente al multitrayecto asociado a la cantidad de edificios en el camino de visión directa y en particular al edificio RX en el que se realizan resonancias magnéticas, interfiriendo en el nivel de señal recibido aún con el aislamiento propio de las salas donde se llevan a cabo las mismas.



Figura 4. Vista esquemática del CHN con el GW situado en los edificios H y EC junto con los diferentes nodos que cubren.

En la Figura 5 se observan los paquetes recibidos y el *Received Signal Strength Indicator* (RSSI) en esos 2 GW (edificios H y EC). En la Figura 6 se muestra el RSSI medio recibido desde los diferentes nodos en esos dos GW. En LoRa, se considera un RSSI mínimo de -120 dBm para poder recibir un nivel de señal lo suficientemente fuerte para la comunicación, superado ampliamente para todos los nodos. Asimismo, se observa que el nivel de intensidad en EC es siempre mayor que en H, excepto en para el nodo HVC. En este caso, en H se recibe un nivel más fuerte debido a que tienen *Line of Sight* (LoS).



Figura 5. Paquetes recibidos y nivel RSSI desde los distintos nodos para localizaciones del GW en edificios H y CE.



Figura 6. RSSI medio recibido desde los distintos nodos para localizaciones del GW en edificios H y CE.

3.2. Aplicación de seguimiento de pacientes

Se ha desarrollado una aplicación Android para monitorizar la ubicación y desplazamiento de los usuarios, que solicita la información a presentar a la infraestructura *cloud* y ésta le devuelve las imágenes actualizadas a representar. Esto permite que no sea el dispositivo móvil el que deba realizar el esfuerzo de cómputo, sino que sea un mero interfaz en el que presentar la información. El refresco de la ubicación de los pacientes puede realizarse bajo demanda o con la periodicidad que se configure, siempre dentro del margen permitido por la frecuencia de recolección de datos de ubicación y el tiempo de cálculo necesario para preparar las correspondientes imágenes.

La infraestructura *cloud* incluye un sistema de ingesta de mensajes basado en Apache Kafka que vuelca los mensajes de localización provistos por los dispositivos en un sistema gestor de base de datos PostGIS. Sobre la base de datos se realizan las consultas de localización y con los resultados de estas consultas se ofrece, mediante un servicio web diseñado ad-hoc, las imágenes de localización y tracking solicitadas por la aplicación Android (UCI-Tracker) que puede usarse tanto en un smartphone como en una tableta con sistema operativo Android 8. El acceso al servicio de localización se realiza mediante una petición GET, mientras que el envío de los datos de localización del dispositivo a la nube se realiza mediante un mecanismo POST. En ambos casos, se emplea el API REST. La Figura 7 muestra el aspecto de la aplicación de localización y tracking, que permite conocer los flujos de movimiento y la localización bajo demanda de los pacientes UCI.



Figura 7. Aspecto de la aplicación de localización

4. Conclusiones y líneas futuras

Se ha realizado un estudio de cobertura LoRa en un complejo hospitalario de varios edificios conectados por túneles. En este caso de uso concreto, un único GW LoRa sería suficiente para dar cobertura a las motas localizadas por encima del nivel del suelo. Para cubrir las motas subterráneas, serían necesarios dos GW LoRa. Este segundo GW proporcionaría mayor robustez al sistema, ya que varias de las motas alcanzarían a ambos GW.

Usando como base el estudio de cobertura, se ha desarrollado una aplicación remota y segura para el seguimiento de pacientes de la UCI que se desplazan a distintas unidades médicas del CHN. Sería necesario realizar un estudio más profundo sobre la usabilidad del sistema para determinar el grado de aceptación por parte de pacientes, profesionales sanitarios y celadores.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente apoyado por el proyecto "Arquitectura "Internet of Medical Things" (IoMT) para la monitorización y gestión semántica de datos relativos a enfermedades cardiovasculares". Ref: PJUPNA29

Referencias

- [1] Simpson HK, Clancy M, Goldfrad C, Rowan K. Admissions to intensive care units from emergency departments: a descriptive study. *Emerg Med J*, vol 22, sup 6, 2005, pp 423–8.
- [2] Metnitz PGH, Moreno RP, Almeida E, Jordan B, Bauer P, Abizanda-Campos R, Iapichino G, Edbrooke D, Capuzzo M, Le Gall JR. SAPS 3—From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 1: Objectives, methods and cohort description. *Intensive Care Med*, vol. 31, sup 10, 2005, pp. 1336–44.
- [3] Braxton CC, Reilly PM, Schwab CW. The traveling intensive care unit patient: road trips. Surg Clin N Am, vol. 80, sup 3, 2000, pp. 949–56.
- [4] Voigt LP, Pastores SM, Raoof ND, Thaler HT, Halpern NA. Review of a Large Clinical Series: Intrahospital Transport of Critically Ill Patients: Outcomes, Timing, and Patterns. J Intensive Care Med, vol. 24, sup 2, 2009, pp. 108–15.
- [5] Warren J, Fromm RE, Orr RA, Rotello LC, Horst HM. Guidelines for the inter- and intrahospital transport of critically ill patients. *Crit Care Med*, vol. 32, sup 1, 2004, pp. 256–62.
- [6] Marjamaa RA, Torkki PM, Torkki MI, Kirvelä OA. Time Accuracy of a Radio Frequency Identification Patient Tracking System for Recording Operating Room Timestamps. *Anesth Analg*, vol. 102, sup 4, 2006, pp. 1183–6.
- [7] Goga N, Vasilateanu A, Mihailescu MN, Guta L, Molnar A, Bocicor I, Bolea L, Stoica D. Evaluating indoor localization using WiFi for patient tracking. *International Symposium on Fundamentals of Electrical Engineering (ISFEE'16)*, Bucharest, 2016, pp. 1–4.
- [8] Martínez-Pérez M, Vázquez-González G, Dafonte C. The Development of an RFID Solution to Facilitate the Traceability of Patient and Pharmaceutical Data. *Sensors*, vol. 17, sup 10, 2017, pp. 2247-61.
- [9] Kennedy B, Taylor GW, Spachos P. BLE Beacon Based Patient Tracking in Smart Care Facilities. *IEEE International Conference on Pervasive Computing and Communications (PerCom'18)*, Athens, 2018, pp. 439–41.
- [10] Haxhibeqiri J, De Poorter E, Moerman I, Hoebeke J. A Survey of LoRaWAN for IoT: From Technology to Application. *Sensors*, vol 18, sup 11, 2018, pp. 3995.

Análisis del Comportamiento de Canal Radioeléctrico en la Implantación de Servicios Contextuales del Internet of Medical Things

I. Picallo Guembe^{1,2}, P. López-Iturri^{1,2}, J. D. Trigo Vilaseca^{1,2}, J. J. Astrain Escola^{2,3}, L. Serrano-Arriezu^{1,2}, F. J. Falcone Lanas^{1,2}

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica Electrónica y de Comunicación, Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, Navarra, {jesusdaniel.trigo, imanol.picallo, peio.lopez, francisco.falcone, lserrano}@unavarra.es

² Instituto de Smart Cities, Pamplona, Navarra

³ Departamento de Estadística, Informática y Matemáticas, UPNA, Pamplona, Navarra, josej.astrain@unavarra.es

Resumen

Los sistemas inalámbricos constituyen un elemento fundamental en la implementación de entornos de tipo contextual interactivo, cuyo paradigma es el Internet of Medical Things (IoMT). En este trabajo se analiza el comportamiento del canal radioeléctrico en diversos entornos del Complejo Hospitalario de Navarra (CHN), con el fin de poder analizar la viabilidad, configuración y dimensionamiento de las diferentes redes de comunicaciones y sensores inalámbricos. Para ello, se realiza un estudio basado en técnicas de modelado electromagnético determinista volumétrico, basado en la aproximación geométrica de lanzado de rayos tridimensional, logrando resultados de elevada precisión del comportamiento de los potenciales transceptores integrados en el entorno.

1. Introducción

Uno de los grandes retos a abordar en los próximos años es incrementar los niveles de sostenibilidad de los entornos urbanos, así como mejorar los niveles de participación ciudadana en diversos ámbitos de gobierno, gestión y administración. En este marco, surge el concepto de Smart Cities y Smart Regions, como paradigmas en la búsqueda de un uso eficiente del amplio conjunto de recursos empleados en dichos entornos. Para ello, es necesario realizar una gestión interactiva de los múltiples sistemas, como transporte, energía, gestión de recursos hídricos, gestión de residuos, manejo/generación de datos y sistemas de gobernanza electrónicas. Uno de los sistemas de mayor relevancia encuadrado en dicho conjunto es el sistema de salud, comprendido en sentido amplio, desde el punto de vista asistencia clínica, ambulatoria y de asistencia social.

La integración de las tecnologías de la Información y Comunicación en el ámbito sanitario se lleva realizando desde hace varios años, integrando elementos tales como el registro de salud electrónico, receta electrónica, telediagnostico/consulta remota o sistemas de seguimiento con elementos wearables y móviles. De esta manera, se han desarrollado los sistemas de e-Health y m-Health, en función de los dispositivos y el grado de movilidad empleados. Una evolución en la combinación de ICT en el ámbito sanitario es la integración de sistemas e-Health/mHealth dentro de los sistemas de una Smart City, dando pie al paradigma de Smart Health (s-Health) [1-2]. De esta manera, es factible coordinar sistemas tales como el de transporte inteligente con el de detección de accidentes (a través de sensores y cámaras), permitiendo por ejemplo el envío automático de una ambulancia al lugar de un accidente, o el guiado y localización de pacientes en un hospital para implementar una gestión de los mismos basado en procesos.

Para poder facilitar la implementación de dichos servicios, es necesario contar con entornos de tipo contextual e interactivo, en los cuales los usuarios pueden comunicarse y ser comunicados con los diferentes recintos sanitarios en los cuales se encuentra. Para poder lograr dicho objetivo, es imprescindible el empleo de diversos sistemas de comunicaciones inalámbricos, debido a su alta movilidad y alta penetración en los usuarios, gracias a la popularidad de smartphones, con capacidad de conectividad amplia, así como la introducción de redes de sensores inalámbrico y redes área corporal. El empleo de dichos sistemas, así como la futura adopción de sistemas de comunicaciones 5G implican un uso intensivo del espectro radioeléctrico, con múltiples sistemas siendo utilizados de manera simultánea y en general sin mecanismos específicos de gestión de acceso al medio o de control de interferencia. Precisamente, esta condición última puede limitar de manera severa dichos sistemas de comunicaciones, basados en el cumplimiento de relaciones de cobertura/capacidad, fuertemente influenciados por el comportamiento del tráfico cursado, así como por las variaciones en las densidades de los usuarios [3-4].

En este trabajo, se presenta el análisis del comportamiento de las señales radioeléctricas, empleadas como red de acceso para diversos sistemas y dispositivos en recintos sanitarios, con el objetivo de implementar en los mismos entornos contextuales interactivos. Se considera un entorno real, en el Complejo Hospitalario de Navarra (CHN) y se modela empleando técnicas de simulación de tipo determinista, con el fin a de poder calibrar el comportamiento del canal y realizar un dimensionamiento y planificación a nivel de configuración y ubicación de los correspondientes nodos de infraestructura en dichos recintos (Urgencias y UCI) del CHN.

2. Material y métodos

Con el fin de poder planificar el despliegue y la configuración a nivel de nodos y topología de red, es necesario realizar estimaciones del comportamiento de los enlaces inalámbricos en el entorno de operación en el que se van a ubicar. En este sentido, existen diversas aproximaciones, en función del compromiso entre precisión del resultado obtenido y el coste computacional del método empleado. Los métodos más precisos se basan en simulación de onda electromagnética completa (e.g., técnicas de diferencias finitas en dominio temporal, integración finita en dominio temporal o método de los momentos, entre otros), en los cuales se resuelven las ecuaciones de Maxwell de manera tridimensional para un mallado que representa el recinto de simulación. Dichos métodos escalan de manera no lineal en función de las dimensiones del mismo, los elementos constitutivos del escenario (forma y materiales empleados) y la longitud de onda de operación del sistema inalámbrico. De esta manera, para frecuencias de operación habituales de redes móviles, WiFi, Bluetooth o de sensores (entre 700MHz y 5.9GHz), no es factible simular recintos interiores de centenares de metros cuadrados. Por otra parte, existen técnicas de simulación que emplean modelos empíricos o semi-empíricos, en los cuales se obtienen modelos de pérdidas radioeléctricas, generalmente basadas en el empleo de regresiones lineales o no lineales de un conjunto de datos experimentales. Dichos métodos tienen un coste computacional bajo, pero requieren de calibración intensiva en base a medidas realizadas en el entorno bajo análisis, lo que resulta muy costoso en general. Como término intermedio, existen técnicas de simulación de tipo determinista basado en aproximar el frente de onda, mediante la formulación de óptica geométrica combinada con teoría uniforme de la difracción (GO+UTD), en conjunto discreto de rayos que se propagan desde la fuente de ondas radiadas y que interaccionan, por medio de la aplicación de las condiciones de Fresnel, con todos los objetos presentes en el escenario de simulación. Esta metodología comprende métodos tales como trazado de rayos (con un procesado previo para la detección de obstáculos) o lanzado de rayos (los rayos son propagados en función del ángulo definido, independientemente de la existencia de obstáculos).

En este trabajo se emplea un método de análisis de canal radioeléctrico basado en lanzado de rayos 3D (3D RL), implementado en código Matlab en la UPNA. El código admite lanzar fuentes radiantes múltiples ubicadas de manera arbitraria en el escenario de simulación, en función de un ángulo sólido de lanzado definido. El escenario de simulación incluye las dimensiones y formas de los elementos que lo componen, así como las propiedades eléctricas de los materiales que los constituyen. Dichos parámetros (constante dieléctrica y conductividad) son dispersivos en frecuencia, por lo que se parametrizan en función de la frecuencia de operación de los mismos. Como parámetros de entrada de simulación, se fijan los valores de resolución angular de lanzado de los rayos, tanto para los planos cenitales como azimutales, el tamaño de los cuboides que conforman el mallado del escenario y el número máximo de reflexiones admitidas hasta la extinción de cada uno de los rayos lanzados. Dicha parametrización se realiza en base a estudios previos sobre la convergencia de código, con el fin de poder optimizar el coste computacional del mismo [5]. El análisis se ha realizado sobre dos recintos específicos existentes en el Complejo Hospitalario de Navarra (CHN): Edificio de Urgencias y Unidad de Cuidados intensivos, que se describen a continuación.

2.1. Edificio de Urgencias

Dentro de la evolución en la prestación de servicios en el CHN, se ha integrado un nuevo recinto dedicado a la atención de servicios de urgencias. Se trata de un edificio en el cual en la planta baja del mismo se integra la recepción, triaje, instalaciones diagnósticas, boxes de consultas y zona de observación. Se muestra en la figura 1 la representación del modelo 3D implementado con el fin de poder realizar el estudio de caracterización de canal radioeléctrico de dicho recinto, con una superficie aproximada de 3000m².



Figura 1. Vista del Modelo de Simulación volumétrico del Recinto de Urgencias del CHN en Pamplona.

2.2. Recinto de la UCI

Como segundo escenario, se ha considerado la UCI del CHN. Se ha recreado el escenario con su correspondiente de simulación volumétrico, mostrado en la figura 2



Figura 2. Vista del Modelo de Simulación volumétrico de la UCI del CHN en Pamplona

Con el fin de poder valorar el comportamiento de potenciales sistemas a integrar, como pueden ser un sistema de guiado y localización de pacientes, monitorización de instrumentos/equipos o telemetría/telecontrol de sistemas funcionales del recinto. es necesario embeber transceptores inalámbricos en el mismo. Para ello, se han integrado un conjunto de transceptores en el recinto en diversas localizaciones, analizando el comportamiento de caracterización radioeléctrica. Se ha considerado una frecuencia de operación de 2.4GHz, pudiendo corresponder а transceptores de diversas tecnologías, como pueden ser WLAN, redes de sensores ZigBee o redes de corto alcance como Bluetooth o Bluetooth Low Energy. Los resultados se han obtenido para todo el volumen del escenario de simulación. Los parámetros de simulación se han fijado en resolución angular de lanzado de rayos en ambos planos de 1º, cuboides de 1m², número máximo de reflexiones n=6 y frecuencia de operación de 2.4GHz. Los parámetros se han fijado en base a estudios previos de convergencia [5].

3. Material y métodos

Tras la definición de los parámetros de simulación y de configuración, se procede a la obtención de resultados de estimación de canal radioeléctrico. En la figura 3 se presentan los resultados para la localización de 4 transceptores y la distribución de potencia recibida particularizado para un plano bi-dimensional ubicado a una altura de 1.5m. Se pueden observar diferencias relevantes tanto en los valores de intensidad, como superficie cubierta y la existencia de zonas de obstrucción/bajo nivel de cobertura. Dichas distribuciones, no uniformes, requieren por lo tanto de una implantación de múltiples transceptores, ubicados de manera no-regular y adaptado al escenario específico con el fin de poder garantizar continuidad en la cobertura. En este caso, el empleo de una topología con 4 transceptores (entrada, triaje, boxes, observación) proporciona el nivel de servicio en el recinto. Dichas variaciones vienen dadas de manera fundamental por efectos de obstrucción y de propagación multitrayecto, por la existencia de múltiples reflectores en el interior del recinto de urgencias. Con el fin de poder valorar el impacto de dichos fenómenos, se presentan estimaciones de cálculo de perfiles retardo potencia, en los que se observan las diferencias de retardos de las componentes de campo eléctrico, dados por las diferencias en las distancias de los trayectos que recorren. En la figura 4 se presentan los resultados para 3 ubicaciones de potenciales receptores, para un cuboide situado a 1 m de altura. Se observan desviaciones en el orden de 50ns entre localizaciones, correspondiente a diferencias de recorridos superiores a 15m recorridos en dichas componentes, jugando un papel relevante en los esquemas de ecualización en los receptores en función de los anchos de banda empleados.

En este caso, se ha considerado una estructura con 3 transceptores y los resultados de simulación para cada uno de ellos se muestra en la figura 6. Al igual que para el recinto de urgencias, se observan distribuciones no uniformes fuertemente dependientes de la topología y morfología del escenario, fruto de efectos de obstrucción y de propagación multi-trayecto, como se puede observar en la figura 6.



Figura 3. Estimación de Mapas de Cobertura, para un plano de corte 2D a una altura de receptor de 1.5m, para cada una de las ubicaciones de los transceptores en el escenario de la planta baja del edificio de Urgencias (CHN-Pamplona).



Figura 4. Estimación de los valores de Perfiles de Retardo Potencia, en el escenario de la planta baja del edificio de Urgencias (CHN-Pamplona)



Figura 5. Estimación de Mapas de Cobertura, para un plano de corte 2D a una altura de receptor de 1m, para cada una de las ubicaciones de los transceptores en el escenario de la UCI (CHN-Pamplona)



Figura 6. Estimación de los valores de Perfiles de Retardo Potencia, correspondiente al efecto en dominio temporal para una ubicación específica de receptor en función de la operación de cada uno de los transceptores considerados, en el escenario de la UCI (CHN-Pamplona).

4. Conclusiones y líneas futuras

La implementación de entornos contextuales propios de IoMT requiere del uso de transceptores inalámbricos, con densidades y ubicaciones variables, lo que requiere un estudio detallado del canal inalámbrico, con el fin de poder garantizar los parámetros de calidad de servicio. Con este fin, se ha analizado el comportamiento del canal radioeléctrico mediante simulación determinista 3D RL, permitiendo la estimación volumétrica de cobertura, así como estimaciones en dominio temporal, de entornos específicos en el CHN. De esta manera, se pueden realizar labores de planificación de diseño y despliegue de sistemas, adaptados al entorno, optimizando su comportamiento para cumplir con los parámetros de calidad de servicio.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente apoyado por el proyecto "Arquitectura "Internet of Medical Things" (IoMT) para la monitorización y gestión semántica de datos relativos a enfermedades cardiovasculares". Ref: PJUPNA29

Referencias

- Agusti Solanas, Constantinos Patsakis, Mauro Conti, Ioannis S Vlachos, Victoria Ramos, Francisco Falcone, Octavian Postolache, Pablo A Pérez-Martinez, Roberto Di Pietro, Despina N Perrea, Antoni Martinez-Ballesté, "Smart Health: A Context-Aware Health Paradigm within Smart Cities", IEEE Communications Magazine, Vol. 52, n. 8, pp. 74-81, 2014
- [2] Jinan Fiaidhi ; Sabah Mohammed, "Digital Health in the Era of Extreme Automation", IEEE IT Professional, Volume: 20 , Issue: 3, pp. 90-95, 2018
- [3] Lopez-Iturri, P.; Aguirre, E.; Trigo, J.D.; Astrain, J.J.; Azpilicueta, L.; Serrano, L.; Villadangos, J.; Falcone, F. Implementation and Operational Analysis of an Interactive Intensive Care Unit within a Smart Health Context. Sensors 2018, 18, 389.
- [4] López-Iturri, P.; Aguirre, E.; Azpilicueta, L.; Astrain, J.J.; Villandangos, J.; Falcone, F. Challenges in Wireless System Integration as Enablers for Indoor Context Aware Environments. Sensors 2017, 17, 1616
- [5] Azpilicueta, L.; Rawat, M.; Rawat, K.; Ghannouchi, F.; Falcone, F. Convergence analysis in deterministic 3D ray launching radio channel estimation in complex environments. Appl. Comput. Electromagn. Soc. J. 2014, 29, 256–271

A facial expression recognition system for eHealth intervention platforms: A proof of concept

M. Puente-Durán¹, D. Moreno-Blanco¹, Javier Solana Sánchez^{2,3,4}, P. Sanchez-González^{1,5}, E.J. Gómez^{1,5}

¹Biomedical Engineering and Telemedicine Centre, ETSI Telecomunicación, Center for Biomedical Technology, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain; {dmoreno, psanchez, egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Institut Guttmann, Institut Universitari de Neurorehabilitació adscrit a la UAB, Badalona, Spain.

³ Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

⁴ Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain

⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, Spain

Abstract

Adherence is essential in any kind of treatment. The noncompliance or lack of adherence is a complex problem that comprises a wide variety of situations and has multiple causes. It is necessary to know the level of follow-up in order to increase it as much as possible and thus improve the patient's health, both physical and mental. People's mood and motivation are key aspects. In order to help to deduce these variables, a system capable of recognizing emotions from facial expressions has been designed, oriented to people who are carrying out any off-site therapy. Thus, thanks to the automatic detection of their emotional state, knowing how the treatment affect them will be possible, in order to personalize it and maximize its adherence and effectiveness. Public datasets have been used, containing a large number of images with the specific characteristics that are necessary to obtain the desired effect on the network. In the different webpages that the application contains, on the one hand the registration of a session is possible, period during which the facial expressions shown by the user will be detected and stored. The evolution of these emotions can be graphically visualized, for any of the users and the sessions registered in the database. This system has been submitted to some tests with different subjects to demonstrate that its operation is correct, and that the detection is independent of the user.

1. Introduction

In general, in the presence of any kind of injury or disability, whether physical or mental, and regardless of what caused it, treatment is usually required as part of the recovery process. Furthermore, also other treatments can be received without suffering any damage, for example, psychological treatment to improve some aspects of people's lives.

Adherence is essential in any kind of treatment. The term therapeutic adherence refers to the degree in which the recommendations given by the health professional are being followed. [1]. The non-compliance or lack of adherence is a complex problem that comprises a wide variety of situations and has multiple causes, which is why the World Health Organization (WHO) considers it a priority public health issue [2]. Obviously, adherence is different for each type of treatment and each patient, therefore varying its real prevalence. Knowing the level of follow-up is necessary in order to increase it as much as possible and thus improve the patient's health, both physical and mental.

Another important aspect for patients' adherence is to perform a deep monitoring in a non-intrusive way. Monitoring emotional states is possible and useful, especially in those fields in which there is a problem derived from the lack of information. Related works have shown their efficiency to detect the mood of a patient and give feedback to the professionals in hospitals [3] or even to detect depression on students [4].

The aim of this work is to design a facial expression recognition system that may provide professionals, such as therapists and physiatrists, a means to monitor their patients and thereby to control their adherence to the treatment.

2. Materials

2.1. TensorFlow

TensorFlow is an end-to-end open source framework for developing and training machine learning models with a simple and flexible architecture. It has a comprehensive and flexible ecosystem of tools libraries and community resources, which allow easily building and deploying applications. It can be used with many programming languages in the frontend, since it provides different APIs for each one of them.

2.2. Keras

Keras is a high-level neural networks open-source API, which allows for easy and fast prototyping and experimentation, and that can be run on top of some toolkits such as TensorFlow. It runs both on CPU and GPU, and supports convolutional networks, recurrent networks and a combination of both.

3. Methods

3.1. Complete system

As it can be seen in Figure 1, the complete system consists of three different elements:

- Web application. The user will be able to interact with the system through it, either for using the emotion detection algorithm or for viewing previously recorded data.
- Web server. It attends the requests sent by the web application. It mainly processes the images sent through the web application with the facial expression recognizer model resultant from training the neural network. It also manages database data, storing and retrieving information requested through the web application.
- **Database.** It stores and saves the data received from the web server.



Figure 1. Architecture diagram of the system

3.2. Facial expression recognizer model

The recognizer works as follows: given an image containing a face, detects where it is and returns the emotional expression that it is reflecting. The dataset that has been used is given in a CSV file.

The model that has been tested and assessed is the one created by the GitHub user *ssarangi* for a Kaggle challenge [5]. It uses *fer2013* dataset which includes a huge number of still images of faces with 7 different emotions (anger, disgust, fear, happiness, sadness, surprise and neutral), which is what this model will need.



Figure 2. Representation of the number of images per emotion.

Because the dataset does not have the same number of images for each of the emotions, as it can be seen in Figure 2, the training could be suboptimal. To optimize the neural network training, data augmentation technique has been applied. The number of images for each of the 7 facial expressions has been augmented by taking the current images and modifying orientation, quality or size, so they could be considered as new different images.

The model is defined by a Convolutional Neural Network (CNN) with a sequential model to build the layers has been deployed. The network has been trained both with the original dataset of images and applying data augmentation to it. The most important parameters when training a neural network are:

- *Epochs*: refers to the number of complete passes through the training dataset.
- *Batch size*: refers to the number of samples processed before the model is updated.

4. Results

4.1. Accuracy results of the facial expression recognizer model

The neural network that has been used has several layers and it has been trained for 50 epochs twice, first without applying data augmentation and then including this technique. The rest of the parameters and definitions have remained unchanged.

In order to assess the trained model, some additional parameters have been extracted. A confusion matrix (Figure 3A) has been drawn, which is a tool that represents the performance of an algorithm that uses supervised learning. For this, the validation set is used, which is made of a 20 % of the images from the original dataset, being the remaining 80 % the images used for training.



Figure 3. (A) Confusion matrix for the model without data augmentation. (B) Confusion matrix for the model with data augmentation.

The former model has also been trained with the augmented dataset. The confusion matrix obtained can be observed in Figure 3B. Compared to the matrix without data augmentation (Figure 3A), only "disgust" obtains better results whereas the other categories are equal or worse.

Facial Expression	Accuracy	Precision	Recall	F1- score
Anger	0.97	0.90	0.87	0.89
Disgust	0.99	0.95	0.89	0.91
Fear	0.96	0.83	0.90	0.86
Happiness	0.98	0.94	0.96	0.95
Sadness	0.97	0.91	0.87	0.89
Surprise	0.98	0.95	0.93	0.94
Calm	0.96	0.91	0.89	0.90
Average	0.97	0.91	0.91	0.91

 Table 1. Parameters of the emotion detection model validation without data augmentation. Accuracy: reflects the ratio of correctly predicted images to the total images. Precision: relation between the number of faces predicted as a certain emotion, and the number of those faces that actually reflect that emotion. Recall: is the sensitivity of the network. F1-score: is the weighted average of precision and recall.

Results obtained using augmented dataset were no similar or better than the achieved without the use of data augmentation technique, as it was expected. This could be because the same number of epochs have been performed in both cases, when in this case some more should have been conducted, since the training set contained many more images.

The final model evaluation parameters are represented in Table 1. The higher any of this parameters are, the better results reflect from the neural network training.

4.2. Complete System

The web application designed for the system is composed of three webpages. In the first page, the application's function is indicated in the upper side with the title *Facial Expression Recognition*, and the logo of the research group in which this project has been developed is shown in the bottom right corner. In the center of the page, the login box is included, in which the user must enter his username for identifying him during the session. When the *Submit* button is pressed, a request is sent to the server and a different webpage is opened for the session, which is shown in Figure 4



Figure 4. Video page from web application

Session will start when the *Press me!* button is clicked. Then the facial analysis begins: every two seconds a frame is captured from the video and sent to the server, where it is processed, and the result is returned to the webpage to be displayed. After processing the image, the server also stores in the database the data corresponding to it.

The facial expression detected in each moment is visualized in the webpage in two ways: in the top right corner of the video the dominant emotion is indicated, and on the right of the video, the percentages for all the emotions are dynamically displayed, highlighting the dominant one at every moment.

From the main page, if the *Results page* button is pressed, the server will redirect the user to a new webpage in which all the registered sessions' data can be analyzed.

In order to validate the proper functioning of the application, some tests have been carried out.



Figure 5. Architecture diagram of the system

The correct identification of all the emotions have been proved, registering the video for a few seconds and making small changes in the facial expression as well as more radical ones. In Figure 5 the results obtained for the Subject 1 when expressing some different emotions are represented as an example.

The classifier requires a video with sufficient lighting to be able to identify the face, so it will not work that well in dark conditions. Another requirement already mentioned, is that the face should be as clear from blocking elements as possible and facing forward, otherwise the algorithm will not detect any face. No limitation founded on background elements.

In addition to this, in order to prove that the system is independent from who the user is and thus it is valid for any person, some testing has been done with different people. Seven people have participated in this analysis, expressing different series of emotions. In Figures 6 and 7, some of these subjects' images are represented.

5. Future Work

Next steps of this work include the incorporation of this new system in existing eHealth platforms. Guttmann Neuro Personal Trainer (GNPT) [6] is a cognitive rehabilitation platform based on web tasks that patients can perform at home from their own computer. Including this new tool on this platform, it is possible to add a new personalization layer based on the mood of the patient.

Other eHealth platforms based on monitoring questionnaires for nutrition and other healthy habits could benefit from this tool. Correlating the answers with the mood of the person which fulfills the questionnaire are part of the future work planned. One of the strengths of this system is that only a webcam is needed, so every mHealth application could easily benefit from this tool.

It is also planned to develop a validation tool that check light conditions and person position in front of the camera, to ensure that the monitoring is going to be correctly done and to minify the losses of data.

Furthermore, this tool will be integrated with other emotion detection tools like NLP with written text or Voice emotion detection to compare these results. Also improve the system and expand to more emotions like boredom or frustration.



Figure 6. Real-time video with detected emotions.



Figure 7. Emotions obtained for the testing with other subjects.

6. Conclusions

Monitoring emotional status is actually very important for intervention therapies. Knowing the actual state of mind, or how is the user reacting to an intervention program provides a lot of useful information which can be considered for personalization and to adjust the intervention.

The system developed in this work is based on a webserver architecture. That makes this tool very intraoperative and easy to integrate with almost any existing system. The main limitation of this system it that it has only be tested through a web application with computer webcams. On the other hand, the best advantage of the system is its high rate of accuracy. It makes it a strong tool for emotion detection.

Acknowledgments

Partially funded by: FEDER/Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades – Agencia Estatal de Investigación/_Proyecto DPI2017-86088-C3-1-R.

References

[1] Buitrago F. Adherencia terapéutica. ¡Qué difícil es cumplir! *Atención Primaria*, vol 43, no 7, 2011, pp

343-344.

- [2] WHO. Adherence to long-term therapies. *World Health Organization*, 2003, pp 1–194.
- [3] Muhammad G, Alsulaiman M, Amin SU, Ghoneim A, Alhamid MF. A Facial-Expression Monitoring System for Improved Healthcare in Smart Cities. *IEEE Access*, vol 5, 2017, pp 10871– 10881, (ISSN: 2169-3536).
- [4] Venkataraman D. Extraction of Facial Features for Depression Detection among Students. *International Journal of Pure and Applied Mathematics*, vol 118, no 7, 2018, pp 455–463, (ISSN: 1311-8080).
- [5] Kaggle Facial Expression Recognizer Branch "n" Bound. http://ssarangi.github.io/Kaggle_FacialExpression Recognizer/ (Consultada: Sep 2019).
- [6] Solana J et al. Improving brain injury cognitive rehabilitation by personalized telerehabilitation services: Guttmann neuropersonal trainer. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, vol 19, no 1, 2015, pp 124–131, (ISSN: 21682194).

Optimización en la extracción de datos mediante procesamiento de lenguaje natural en terapias de adicción a cocaína

J. Tapia-Galisteo¹, Y. Vega-Vargas¹, J.M. Iniesta-Chamorro¹, C. Pérez-Gandía^{1,2}, G. García-Saez¹, 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, yvega, jminiesta, cperez, ggarcia, 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

En la lucha contra la drogodependencia en terapias de adicción a la cocaína existe una alta tasa de abandono. El éxito del tratamiento está fuertemente ligado a la adherencia al mismo y el abandono es 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, y a la reincidencia de los pacientes que no reciben el alta terapéutica. Por otra parte, analizar la información disponible en este tipo de recursos sanitarios no es tarea fácil, debido a que se suele encontrar en informes o documentos de texto libre. El objetivo de este trabajo es mejorar y optimizar un módulo de extracción automática de datos que utiliza técnicas de procesamiento del lenguaje natural (PLN), desarrollado en iteraciones previas, con el fin de extraer la información procedente de los informes de derivación de los pacientes. En la optimización del módulo se han utilizado 108 informes de derivación, de los cuales se extraen hasta 124 variables por informe y 20 informes en la validación del mismo, comparándose la extracción del módulo automático con la extracción manual, y obteniendo como resultado un porcentaje de discrepancia del 4,76%, inferior al 6,21% obtenido con la versión anterior. El modelo agiliza la obtención de los datos, empleando 1 segundo/informe extraído de forma automática frente a los 30 minutos/informe extraído manualmente. Esto permite concluir que el módulo desarrollado es útil para la extracción automática de información en el contexto bajo estudio.

1. Introducción y objetivos

1.1. Antecedentes y contexto

El abuso y consumo de drogas en la actualidad, supone uno de los problemas de salud pública más relevantes y que mayor gasto de recursos genera en los países occidentales. En España, el consumo de cocaína se ha convertido en un problema de tendencia creciente, situándolo como uno de los países en los que más se consume dentro de la Unión Europea. [1]

De cara al tratamiento de estas dependencias, así como su prevención, existen redes terapéuticas que abordan de forma integral este problema. Los objetivos son: la prevención, reducción y curación completa del paciente, así como el tratamiento personal y psicológico del mismo. Estas unidades especializadas, tienen dos tipos de servicios: tratamientos residenciales donde los pacientes en estos centros pernoctan en unidades de hospitalización o comunidades terapéuticas/residenciales y tratamientos ambulatorios donde el paciente no pernocta en el centro.

Las comunidades autónomas (CCAA) disponen de redes de recursos de tratamiento ambulatorio para la atención integral a drogodependientes donde se realiza la atención de segundo nivel con una valoración interdisciplinar del paciente y un abordaje integral del tratamiento incluyendo aspectos sanitarios, psicológicos, farmacológicos, familiares, sociales y ocupacionales [2].

Asimismo, la red de las CCAA cuenta con recursos residenciales de tercer nivel 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 se encuentran las unidades de desintoxicación hospitalaria. La solicitud de ingreso a estas unidades requiere la cumplimentación de un informe de derivación por parte de los profesionales responsables del paciente en el centro de segundo nivel de atención 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.

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. Entre sus objetivos se encuentra el utilizar técnicas de procesamiento de lenguaje natural (PLN) para estructurar la información contenida en los informes de derivación y generar una herramienta de ayuda a la decisión que optimice las estrategias terapéuticas y los recursos disponibles en una red regional de adicciones.

1.2. Objetivo

Como punto de partida del presente trabajo, se contaba con una primera versión del módulo de extracción automática de datos [3], donde se extraían 94 variables objetivo relacionadas en diversos estudios previos con la adhesión al tratamiento [4,5].

La extracción manual de las variables de los informes es una tarea muy costosa en tiempo y esfuerzo, y es susceptible de que haya diferencias en función de la persona que la realiza al existir interpretaciones subjetivas de algunos aspectos. Por ello, con el fin de reducir el tiempo empleado y de unificar criterios se utilizan técnicas de PLN [6], 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 optimización y restructuración del módulo de PLN original con el fin de: (1) reducir el nivel de discrepancia obtenido en las 94 variables que ya se estaban extrayendo, y, (2) incluir y extraer 30 nuevas variables referentes a la personalidad y competencias del paciente.

Se espera que este desarrollo suponga un importante ahorro en tiempo y permita obtener una base de datos, con el histórico de todos los pacientes tratados en el centro, 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

Se han utilizado 128 informes de derivación, de los cuales 108 informes se han utilizado como conjunto de entrenamiento y 20 informes como conjunto de test que no han sido tenidos en cuenta para la creación, entrenamiento y depuración del módulo de extracción automático. Para todos los informes se realizó previamente la extracción manual de variables y están estructuradas en una base de datos (tanto las 94 iniciales como las 30 nuevas). Además, se dispone de una segunda base de datos generada con la versión anterior del módulo de extracción automática.

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 de los informes 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.

La *Tabla* 1 muestra el conjunto de variables que se identificaron como objetivo para extraer por cada sección y por cada droga de consumo.

2.3. Optimización del módulo PLN

La nueva arquitectura del extractor sigue una estructura modular que asegura la posibilidad de reutilización,

dotando a la solución de flexibilidad ante futuros posibles cambios. Dicha arquitectura se puede ver en la *Figura* 1.

Secciones	Nº Variables
Datos personales (Sexo, edad, IMC,	0
etc.)	9
Medicación	14
Psicofármacos	1
Tipo de psicofármaco (estabilizador, sedante, etc.)	12
No psicofármacos	1
Sustancias de consumo	62
Cocaína (Edad inicio, vía de consumo etc.)	13
Heroína (Edad inicio, vía de consumo etc.)	13
Cannabis (Edad inicio, vía de consumo etc.)	13
Tabaco (Edad inicio, vía de consumo tabaco etc.)	11
Alcohol (Edad inicio, vía de consumo etc.)	11
Otras sustancias	1
Tratamientos previos	9
Centro	1
Año pide ayuda por 1a vez	1
Nº tratamientos previos	4
Tiempo de estancia (máximo y total)	2
Tiempo de abstinencia	1
Personalidad y competencias	30
Competencias del paciente	10
Valoración de la personalidad	1
Capacidades del individuo	19
Formación del paciente	1
Casos judiciales pendientes	1
Variables totales	124

Tabla 1. Variables objetivo

Para el desarrollo del módulo de extracción automática con una metodología basada en reglas empleando el lenguaje de programación Python y el kit de librerías Natural Language Toolkit ó NLTK [7], ampliamente utilizado en diversos contextos clínicos [8,9].

Interface 📫	Módulo de lectura de documentos Extracción de contenido sin procesar Módulo de extracción de tablas Módulo de conversión a dataframes	Módulo de extracción de las variables Módulo de parseo y uniformidad del lenguaje	de las variables
-------------	--	--	------------------

Figura 1. Arquitectura del extractor

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. En este punto se ha añadido un módulo dedicado a la unificación del lenguaje, el cual contiene una base de datos de conocimiento con el que afrontar abreviaturas y posibles errores tipográficos. En el paso final se realiza la exportación de las variables estructuradas al formato deseado (Excel/BDD), como puede verse en la *Figura 2*.

Uno de los principales problemas existentes en la versión anterior del extractor consistía en su sensibilidad ante pequeños cambios de formato en los documentos Word, de modo que, en ocasiones, no se podían localizar las tablas ante la presencia de caracteres tales como retornos de carro, espacios, y variaciones tipográficas. En esta nueva versión se ha modificado el módulo de extracción de tablas y se ha conseguido eliminar todas las dependencias de este tipo.



Figura 2. Proceso de extracción

El módulo inicial de extracción de las variables objetivo utilizaba dos métodos de extracción: (1) a través de tablas estructuradas en los informes de derivación y (2) a través del procesamiento de lenguaje natural en los campos de texto libre. En esta nueva versión se ha añadido una tercera vía, la cual permite obtener información (3) a través de las propiedades XML del documento.

En el informe de derivación hay campos de texto libre de longitud variable, los cuales pueden aparecer o no en función del informe en concreto, y en los que pueden faltas encontrarse ortográficas, abreviaturas y/o tecnicismos. Por todo esto, en el procedimiento de PLN es necesario dividir los textos en frases, y seguidamente seleccionar aquellas que tienen mayor probabilidad de contener los datos objetivo. Para ello, se dispone de una base de conocimiento creada a partir del estudio de la información expedida por los 108 informes de derivación. Una vez obtenidas las frases de interés, se procede a eliminar aquellas palabras que no aportan significado, denominadas "stopwords". En este punto se realiza un análisis semántico a través de la base de conocimiento, intentado buscar patrones en las frases, de cara a tener el valor de la variable objetivo.

En cuanto a la utilización de las propiedades XML del documento para la obtención de información, se han incluido métodos que permiten transformar en datos ciertos elementos propios de los editores de texto, tales como "checkbox" o el uso de distintos formatos tipográficos (negritas, subrayado, colores, etc.). En la *Figura 3* se puede ver un ejemplo de cómo aparece en el texto la variable de *"Valoración de la personalidad"* mediante "checkbox".

Valoración	Normal
dela	Disfunción leve
personalidad	🖾 Disfunción moderada
	Disfunción grave

Figura 3. Variable propiedades XML

Entre las mejoras añadidas, se ha creado una interfaz gráfica inicial, como prueba de concepto (*Figura 4*). Dicha interfaz permitiría a los profesionales ejecutar y supervisar el proceso de extracción, seleccionando de forma sencilla la carpeta donde se encuentran los documentos a procesar y a continuación ejecutar el módulo de PLN sobre el conjunto de informes, generando un repositorio con la información extraída de manera automática.

2.4. Metodología de validación

Una vez optimizado el módulo de PLN se plantea la comparación de las diferencias encontradas con el método de extracción manual y también respecto de la versión previa del módulo, con el fin de poder medir el grado de mejora obtenido. Esto facilita la identificación de errores y permite conocer con exactitud el porcentaje de discrepancias o desviaciones del nuevo módulo automático frente al manual para cada una de las características.

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. También se realiza una comparativa entre los tiempos de extracción de ambas metodologías.



Figura 4. Interfaz gráfica del extractor

Una vez entrenado el extractor y habiendo alcanzado un nivel de precisión aceptable, se ha utilizado el conjunto de informes de test para validar los resultados. 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, así como la discrepancia de las variables objetivo que se extraían en la primera versión del algoritmo queda desglosado en la *Tabla 2*:

Secciones	Discrepancia actual	Discrepancia 1ª versión
Datos personales	0,82%	1,94%
Sustancias de consumo	4,28%	5,84%
Tratamientos previos	10,1%	11,10%
Medicación	0%	0,76%
Personalidad y competencias	1,33%	N/A

Tabla 2. Discrepancias por conjunto de variables

Realizando una comparativa global entre los datos extraídos manualmente y de manera automática se ha obtenido una tasa de discrepancia del 4% en total de los 108 informes. De esta discrepancia total, la primera versión del algoritmo obtenía un valor del 5,22%, con lo cual se consigue una mejora.

El tiempo empleado por el módulo para la extracción de un informe individual es aproximadamente de 1 segundo, parecido al tiempo de la primera versión (0,89 - 1,12 segundos) aunque en éste se extraen más variables. 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 4,76% con respecto a la extracción manual, es decir, un 0,76% superior a la obtenida en el conjunto de entrenamiento (4%). De esta discrepancia total, la primera versión del algoritmo obtenía un valor del 6,21%, con lo cual se consigue también una mejora en el conjunto de test.

4. Discusión

El módulo PLN de extracción automática optimizado ha sido validado y permite el procesamiento de los informes de derivación con un aumento en la cantidad de variables extraídas y una mejora de precisión respecto de la versión anterior (se obtiene un porcentaje de discrepancia de en torno al 4%). 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 horashombre 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 muestran una considerable disminución del nivel de discrepancia con respecto a la extracción manual cuando se compara con la versión anterior del módulo. Las optimizaciones efectuadas en la estructura del código y los métodos aplicados de PLN han sido satisfactorios y permitirán generar una base de datos históricos estructurada manteniendo la velocidad de extracción de datos y con ello el consecuente ahorro de tiempo que implica automatizar este proceso.

Adicionalmente, las nuevas variables incluidas en la extracción relativas a la personalidad y competencias se tendrán en cuenta en futuros trabajos para el desarrollo de modelos predictivos.

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 Lyfe4AD.

Referencias

- Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (2016), Informe Europeo sobre Drogas 2016: Tendencias y novedades, Oficina de Publicaciones de la UE, Luxemburgo.
- Web del Plan Nacional sobre Drogas del Gobierno: http://www.pnsd.mscbs.gob.es/profesionales/atencionIntegr al/red/home.htm (Sept. 2019)
- [3] Tapia, J. et al. Extracción de datos mediante procesamiento de lenguaje natural en terapias de adicción a cocaína. XXXVI CASEIB. 2018.
- [4] Sánchez-Hervás E et al. Abandono del tratamiento en adictos a la cocaína. Adicciones, vol 22 (1), 2010, pp 59-64.
- [5] Domínguez-Martín AL et al. Estudio de las causas de abandono en un centro de atención a drogodependientes. Trastornos adictivos, vol 10 (2), 2008, pp 112-120.
- [6] Thanaki J. Python Natural Language Processing. Packt Publishing; 2017.
- [7] Bird S, Klein E, Loper E. Natural Language Processing with Python. 1st ed. O'Reilly; 2011.
- [8] Malmasi S, Ge W, Hosomura N, Turchin A. Comparison of Natural Language Processing Techniques in Analysis of Sparse Clinical Data: Insulin Decline by Patients. AMIA Jt Summits Transl Sci Proc. 2019;2019:610–619. Published 2019 May 6.
- [9] Hao T, Weng C. Adaptive semantic tag mining from heterogeneous clinical research texts. Methods Inf Med. 2015;54(2):164–170. doi:10.3414/ME13-01-0130

Caracterización de la actividad eléctrica uterina durante la gestación, el parto y el postparto

J. Mas-Cabo¹, G. Prats-Boluda¹, J. García-Casado¹, A. Perales Marin², J. Alberola-Rubio², Ángel López Corral², Y. Ye-Lin¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain, {jmas, gprats, jgarciac, yiye}@ci2b.upv.es

² Servicio de Obstetricia, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain, perales_alf@gva.es

Resumen

La hemorragia postparto es una de las complicaciones obstétricas asociadas al puerperio de mayor gravedad. Actualmente no existen herramientas que permitan su detección precoz y la planificación de un tratamiento efectivo. Entre el 80-90% de las hemorragias postparto se han relacionado con un útero hipotónico. La electrohisterografía (EHG) ha surgido como una técnica alternativa a la tocografía para monitorizar la dinámica del útero durante la gestación y el parto, aportando información adicional sobre el estado electrofisiológico del útero. Sin embargo, no se ha contrastado la posibilidad de registrar dicha dinámica durante el periodo postparto. En este trabajo se pretende determinar la posibilidad de registrar la señal EHG en el periodo de postparto inmediato y caracterizarla comparando con el periodo activo de parto y la gestación. Los resultados muestran una disminución significativa de la amplitud, la frecuencia mediana, el grado de ordenación de señal, y un aumento del grado de no-linealidad respecto a la señal registrada en periodo activo de parto. Estos resultados constatan la posibilidad de monitorizar la dinámica uterina postparto mediante EHG y por tanto su potencial uso en el diagnóstico precoz de la hemorragia postparto.

1. Introducción

Una de las principales causas de morbimortalidad materna asociada aproximadamente al 11% de los nacimientos totales en países desarrollados, es la hemorragia postparto (HPP) [1]. A nivel mundial la HPP es una de las complicaciones más peligrosas que pueden suceder durante el puerperio [1]. Según la organización mundial de la salud cada año alrededor de 500 mil mujeres mueren por causas asociadas al embarazo o parto, y hasta un 50% de estas muertes son debidas a una HPP [2]. En este sentido, existe una deficiencia de herramientas adecuadas para el reconocimiento precoz de síntomas asociados a la HPP que permitan proporcionar un tratamiento adecuado. Las causas de la HPP comprenden diferentes factores que van desde traumas asociados al proceso del parto, retención de productos de la gestación, alteraciones en la coagulación y atonía uterina [1], [2]. Siendo este último factor el responsable de entre el 80-90% de los casos de HPP [1]. La atonía uterina está relacionada con la incapacidad el útero para contraerse, después de la expulsión del feto. Estas contracciones uterinas ayudan a comprimir los vasos sanguíneos desgarrados durante la separación placentaria, lo que ayuda en gran medida a los mecanismos de coagulación reduciendo el riesgo de hemorragia [3]. Por el contrario, si el útero permanece hipotónico mostrando nula actividad contráctil, es más probable que los mecanismos de coagulación por sí mismos no sean capaces de evitar una HPP [1], [3].

Teniendo en cuenta la importancia de la actividad contráctil uterina en el postparto para evitar la HPP, la monitorización de dicha dinámica podría constituir una potente herramienta que permite la detección precoz de esta complicación. En la práctica clínica se suele utilizar la tocodinamometría (TOCO) para la monitorización de la dinámica uterina durante la gestación y el parto. Esta técnica consiste en registrar las variaciones de presión generadas por la contracción del útero sobre la superficie abdominal materna mediante un sensor en forma de correas. Sin embargo, esta técnica presenta una serie de inconvenientes, tales como que su eficacia en el diagnóstico esté sujeta a la experiencia del personal sanitario o la dependencia y necesidad de reposicionamiento [4]. Más aun, la falta de sensibilidad para detectar contracciones débiles o localizadas hace que sea inviable para la monitorización la dinámica uterina postparto. En este respecto, actualmente no existe ninguna herramienta para evaluar de forma precisa la dinámica uterina postparto.

La electrohisterografía (EHG), es una técnica alternativa que consiste en el registro de la actividad eléctrica asociada a la contracción de las células del miometrio registrada generalmente de forma no invasiva sobre la superficie abdominal [5]. Esta técnica ha demostrado en diferentes trabajos su capacidad para evaluar la dinámica uterina durante la gestación, registrando un mayor número de contracciones que la monitorización de la misma con TOCO, así como permitiendo diferenciar las contracciones efectivas de aquellas que no lo son [6], [7]. La investigación en los últimos años ha centrado su esfuerzo en extraer información útil del EHG para la estimación del horizonte temporal del parto [7]. Para ello se han empleado parámetros tradicionales como la amplitud pico a pico y otros centrados en la caracterización del espectro como la frecuencia media/mediana o frecuencias dominantes [8]. Más recientemente se ha recurrido al cómputo de parámetros de no linealidad, destinados a evaluar la complejidad y el grado de orden de las señales tales como la entropía muestral, el índice Lempel-Ziv [9] o la Reversibilidad temporal [10].

Hasta fecha de hoy no se ha contrastado la posibilidad de monitorizar la dinámica uterina en situaciones de postparto mediante EHG. En este trabajo se plantea por tanto evaluar la capacidad del EHG para valorar la dinámica postparto, así como su caracterización mediante el uso de parámetros tradicionales como la amplitud pico a pico, la frecuencia mediana v otros de naturaleza no lineal, concretamente el índice Lempel-Ziv y la Reversibilidad Temporal. Para ello, se comparará dicha con diferentes escenarios obstétricos. actividad concretamente durante la gestación y el periodo activo de parto (PAP). Con esto se pretende contextualizar la actividad mioeléctrica uterina durante el postparto al enmarcarla con otros escenarios más estudiados en la literatura.

2. Material y Métodos

En este estudio se han incluido un total de 78 registros de EHG, que han sido llevados a cabo en el *Hospital Universitari i Politècnic La Fe* de Valencia. Así mismo, el comité de ético de dicho hospital aprobó la realización de los registros incluidos en el presente estudio. Todas las participantes fueron previamente informadas sobre el protocolo de registro antes de su inclusión, siendo necesaria la obtención del consentimiento informado.

Los registros se pueden clasificar en tres grupos en función de los distintos escenarios obstétricos en que fueron realizados. Concretamente, se dispone de 8 registros realizados aproximadamente 2h después del parto, 21 registros correspondientes a pacientes que se PAP y finalmente 49 pacientes ingresadas por amenaza de parto prematuro que fueron registradas durante el periodo de gestación, con edades gestacionales comprendidas entre las 25 y 36 semanas (ver Figura 1). De este último grupo se han incluido sólo aquellas pacientes que dieron a luz en más de 48h desde el momento del registro y además no estaban bajo efecto de ningún fármaco tocolítico como Atosiban, comúnmente administrado frente a la amenaza de parto prematuro.

Respecto al protocolo de registro se requiere de una preparación de la piel previa a la colocación de los electrodos. Esta preparación consiste en una exfoliación con una crema abrasiva (Nuprep) con el fin de reducir la impedancia electrodo-piel.



Figura 1. Distribución de los registros adquiridos en mujeres durante la gestación, PAP y postparto.



Figura 2. Protocolos de registro: Grupo PAP/Gestación (A) y postparto (B). ↓: Representa la ubicación del ombligo.

Los electrodos de tipo desechable (Ag/AgCl) de disco (3M red dot 2660) se colocan en la disposición indicada en la Figura 2 según el tipo de registro, manteniendo una distancia interelectrodo de 8 cm. Además, se requiere de la colocación de dos electrodos adicionales dispuestos en cada una de las caderas que actúan como electrodo de masa y electrodo de referencia. De las señales monopolares procedentes de los dos electrodos indicados en la Figura 2 se obtiene una señal bipolar, remarcada en color naranja, sobre la que se realizarán los posteriores análisis.

La adquisición de las señales mioeléctricas se realizó empleando unos módulos diseñados por el propio grupo de investigación para su uso en el entorno clínico, cuyas especificaciones pueden consultarse más detalladamente en [11]. Posteriormente las señales son diezmadas a una frecuencia de 20 Hz antes de obtener la señal bipolar, sobre la que posteriormente se realiza un filtrado pasabanda en el rango 0.34 a 4 Hz para mitigar interferencias respiratorias y de alta frecuencia [6].

Para la caracterización de las señales mioeléctricas se ha realizado un análisis de registro completo empleando ventanas de 120 s y manteniendo un solapamiento del 50% [12]. Únicamente se han descartado aquellos tramos que presentaban señales claramente artefactadas. Sobre los tramos de análisis se han computado los siguientes parámetros: en el dominio temporal la amplitud pico a pico (App), en el dominio espectral la frecuencia mediana (MF) y para evaluar el grado de complejidad o no linealidad se ha recurrido al Lempel-Ziv y a la Reversibilidad temporal (Time-Rev.). Los parámetros temporales y espectrales han sido ampliamente empleados en la literatura para la caracterización del EHG durante la gestación y el parto, prematuro y a término [8]. En cuanto a los parámetros de regularidad y complejidad, el índice Lempel-Ziv ha sido extensamente utilizado para caracterizar señales biológicas, entre ellas el EHG. En primer lugar, se transforma la señal en una secuencia de símbolos, y a continuación se recorre dicha secuencia incrementando un contador de complejidad con cada nuevo patrón encontrado [13]. En cuanto a la Reversibilidad temporal, ésta estima lo que se asemeja una señal a sí misma cuando tiempo transcurre de forma natural v cuando éste transcurre de forma inversa. En este sentido, la irreversibilidad es un síntoma de no linealidad, concretamente se dice que una serie temporal es reversible si sus propiedades probabilísticas no cambian o dependen de la forma en la que transcurre el tiempo [10].

Una vez obtenidos los parámetros de cada ventana de señal, para cada registro se ha computado el valor mediana de los mismos, obteniendo así un único valor por parámetro y por registro.

Para estudiar si existen diferencias en las distribuciones de los parámetros obtenidos en los diferentes grupos, se ha aplicado el test de comparación de medianas de Wilcoxon, tomando un valor de significancia de 0.05.

3. Resultados

La Figura 3 representa 10 minutos de señal EHG de diferentes registros, dónde las contracciones se encuentran remarcadas en color naranja, correspondientes a pacientes de los grupos considerados en este trabajo, que ordenados de forma descendente son: postparto, PAP y gestación. En dicha figura se puede comprobar que la amplitud de las contracciones es claramente mayor para el registro durante PAP que durante la gestación. Después del parto la amplitud es de niveles similares al registro tomado durante la gestación. Así mismo, el número de contracciones también alcanza su máximo en el registro de PAP, llegando a un valor de cinco cada 10 minutos, con respecto al registro tomado durante la gestación que muestra únicamente dos contracciones para el mismo intervalo de tiempo y tan sólo una en el grupo de postparto.

En la Figura 4, se representan las distribuciones de los parámetros asociados a cada uno de los grupos definidos. Se ha indicado además con un asterisco si las diferencias entre grupos resultaron ser estadísticamente significativas. En esta figura se puede corroborar el cambio de la amplitud observado en la Figura 3, resultado en un aumento significativo para el grupo de PAP respecto a los otros dos, tanto gestación como postparto. Además de los cambios de la amplitud que se puede apreciar a simple vista, le acompañan también otros menos evidentes, como es el desplazamiento del contenido espectral hacia la zona de altas frecuencias. Este fenómeno se traduce en un aumento significativo de la frecuencia mediana para el grupo de PAP con respecto a la gestación. Después del parto, la frecuencia mediana de la señal EHG disminuye significativamente alcanzando valores similares a los de gestación (ver Figura 4). En cuanto al índice Lempel-Ziv, para el grupo PAP posee valores significativamente menores que para el grupo de gestación indicando una mayor regularidad y un incremento del orden de la señal cerca del momento del parto. De nuevo, los valores del índice Lempel-Ziv de la señal EHG postparto se incrementan significativamente respecto al grupo de PAP, pero son significativamente menores que los de la gestación.

Por último, el parámetro de Reversibilidad temporal muestra un aumento en el grupo de PAP respecto al de gestación, y tiende a disminuir después del parto. A diferencia de los otros parámetros, no se ha observado diferencias significativas del grupo posparto con el grupo PAP.



Figura 3. Registros correspondientes a pacientes de los diferentes grupos, tomados en las semanas 38, 39 y 29 respectivamente



Figura 4. Distribución de los parámetros en los diferentes grupos.

4. Discusión

En la actualidad no existen técnicas de uso clínico que permitan valorar la dinámica uterina en el postparto y poder detectar de forma precoz la HPP. En el presente trabajo se presenta el EHG como técnica potencial para su estudio. Primero destacar la necesidad del diferente posicionamiento de los electrodos para registrar la actividad mioeléctrica uterina. Esto se debe al cambio de posición que sufre el útero a lo largo de la gestación (crece 1cm/semana aprox.) [3], se han colocado los electrodos en la zona supraumbilical (en el medio de fundus y el sínfisis) con una mayor concentración de fibras de masa muscular durante la gestación y durante el parto [3]. Con la expulsión del feto, el tamaño del útero disminuye drásticamente [3]. y por ello se colocan los electrodos en la parte inferior de la pelvis. Los resultados de este trabajo constatan la posibilidad de registrar la actividad mioeléctrica uterina en situaciones de postparto. caracterizado Asimismo, se ha la señal electrohisterigráfica en diferentes escenarios obstétricos con el fin de contextualizar la actividad uterina postparto. Después del parto, la amplitud pico a pico de la actividad mioeléctrica uterina disminuye significativamente, lo cual indica que ha habido una reducción del número de células involucradas en cada contracción [7]. La excitabilidad de las células también disminuye después del parto, lo que disminuiría su capacidad para disparar potenciales de acción y por tanto contraerse, consecuentemente disminuye la frecuencia mediana de la señal EHG [7], [8]. Después del parto, la señal de EHG se vuelve más compleja y menos predecible, aumentando el grado de nolinealidad de la señal. Sin embargo, para poder dilucidar la base de estos cambios a nivel fisiológico se requiere de un estudio comparativo más amplio en función del tiempo al parto, así como el registro de un mayor número de pacientes del grupo postparto. En futuros trabajos se analizará la posible relación existente entre la actividad mioeléctrica uterina postparto con la pérdida hemática en mujeres que han sufrido hemorragia postparto y/o mujeres que han finalizado el parto en cesárea, todo ello con el fin de determinar si el EHG podría utilizarse como una herramienta para la detección precoz de la HPP.

5. Conclusión

En este estudio se ha contrastado la posibilidad de registrar la actividad mioeléctrica uterina durante el postparto inmediato. Después del parto, tanto la amplitud de la señal de EHG como la frecuencia mediana disminuyen significativamente respecto al grupo de PAP, alcanzando valores inferiores o similares que los de la gestación. En comparación con el grupo PAP, la señal EHG postparto es más compleja y menos predecible, y el grado de no-linealidad disminuye. La caracterización de esta actividad postparto podría permitir valorar su relación con parámetros obstétricos como la pérdida hemática y proporcionar información sobre el riesgo de sufrir una HPP.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto AICO/2019/220.

Referencias

[1] H. Karlsson and C. P. Sanz, "Postpartum haemorrhage," An. Sist. Sanit. Navar., vol. 32, no. 1,

pp. 159-168, 2009.

- [2] T. Turmen, "Safe motherhood: A global problem. Report from a symposium on the prevention and management of anaemia in pregnancy and postpartum hemorrhage," *World Heal. Organ.*, pp. 1–13, 1996.
- [3] F. G. Cunningham, K. J. Leveno, S. L. Bloom, J. C. Hauth, D. J. Rouse, and C. Y. Spong, "Obstetricia de Williams," in *Obstetricia de Williams*, 2012, pp. 114– 124.
- T. Y. Euliano *et al.*, "Monitoring uterine activity during labor: A comparison of 3 methods," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 208, no. 1, pp. 66.e1-66.e6, 2013.
- [5] R. E. Garfield, W. L. Maner, H. Maul, and G. R. Saade, "Use of uterine EMG and cervical LIF in monitoring pregnant patients.," *Int. J. Obstet. Gynaecol.*, vol. 112, no. 1, pp. 103–108, 2005.
- [6] M. Lucovnik et al., "Noninvasive uterine electromyography for prediction of preterm delivery," Am. J. Obstet. Gynecol., vol. 204, no. 3, pp. 228.e1-228.e10, 2011.
- J. Garcia-Casado, Y. Ye-Lin, G. Prats-Boluda, J. Mas-Cabo, J. Alberola-Rubio, and A. Perales, "Electrohysterography in the diagnosis of preterm birth: a review," *Physiol. Meas.*, vol. 39, no. 2, 2018.
- [8] M. P. G. C. Vinken, C. Rabotti, M. Mischi, and S. G. Oei, "Accuracy of Frequency-Related Parameters of the Electrohysterogram for Predicting Preterm Delivery," *Obstet. Gynecol. Surv.*, vol. 64, no. 8, pp. 529–541, Aug. 2009.
- [9] A. Lemancewicz *et al.*, "Early diagnosis of threatened premature labor by electrohysterographic recordings -The use of digital signal processing," *Biocybern. Biomed. Eng.*, vol. 36, no. 1, pp. 302–307, 2016.
- [10] M. Hassan, J. Terrien, C. Marque, and B. Karlsson, "Comparison between approximate entropy, correntropy and time reversibility: Application to uterine electromyogram signals," *Med. Eng. Phys.*, vol. 33, no. 8, pp. 980–986, 2011.
- [11] Y. Ye-Lin, J. M. Bueno-Barrachina, G. Prats-boluda, R. Rodriguez de Sanabria, and J. Garcia-Casado, "Wireless sensor node for non-invasive high precision electrocardiographic signal acquisition based on a multi-ring electrode," *Measurement*, vol. 97, pp. 195– 202, 2017.
- [12] J. Mas-Cabo, G. Prats-Boluda, A. Perales, J. Garcia-Casado, J. Alberola-Rubio, and Y. Ye-Lin, "Uterine electromyography for discrimination of labor imminence in women with threatened preterm labor under tocolytic treatment," *Med. Biol. Eng. Comput.*, 2018.
- [13] A. Lempel and J. Ziv, "On the complexity of finite valued functions," *IEEE Trans. Inf. Technol.*, vol. I, no. 1, p. 23, 1976.

Desarrollo de un entorno virtual para la valoración clínica del glaucoma

P. Lampreave¹, I. Martínez-Almeida¹, J. M. Martínez-de-la-Casa², P. Sánchez-González^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; psanchez@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Oftalmología. Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Resumen

El glaucoma es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la degeneración lenta y progresiva de las células ganglionares de la retina. Aunque el campo visual central es relativamente resistente a la degeneración que produce esta enfermedad, el campo periférico es muy susceptible a sufrir daño, viéndose significativamente reducido en pacientes con glaucoma desarrollado.

Este trabajo de investigación presenta un entorno virtual que permite la evaluación objetiva del campo visual, para lo que se emplean técnicas de seguimiento de mirada. Una prueba de concepto con 57 personas (34 pacientes con glaucoma y 23 de control) ha permitido validar la viabilidad de emplear la tecnología de seguimiento de mirada para dicho objetivo.

1. Introducción

El globo ocular es el órgano principal del sentido de la vista, situado en la fosa orbitaria. El ojo está formado por tres capas: externa, media e interna. En esta última se encuentran dos estructuras claves para el proceso de visión: El disco óptico o papila óptica, zona donde se encuentran los capilares sanguíneos y el principio del nervio óptico, y la mácula, donde se encuentra la fóvea central, la zona de la retina con mayor agudeza visual [1]. La capa más externa esta formada por la esclerótica, una membrana que aporta rigidez y forma al globo ocular; en la parte posterior de ésta se encuentra un ligero agujero que permite la salida del nervio óptico. Esta zona es de alto interes en patologías oculares por ser una de las zonas más débiles, y tiende a abombarse generando una estrangulación de las fibras nerviosas de esa zona cuando se genera un aumento de la presión intraocular (PIO). Esto ocurre cuando la velocidad de producción del humor acuoso en el epitelio del cuerpo ciliar es mayor que la velocidad de su drenaje [1,2].

El término glaucoma comprende a numerosas neuropatías ópticas. Su mayor característica es la degeneración progresiva de las células ganglionares de la retina, lo que provoca una pérdida de visión, normalmente en el campo periférico [3]. El número de personas que sufrían esta patología en el mundo se situaba en 67 millones en 2010 y se estima que para el año 2040 la cifra ascienda a 111,8 millones [3,4]. Además, el glaucoma es la segunda causa de ceguera en el mundo, después de las cataratas. Si evaluamos las patologías que causan ceguera irreversible, el glaucoma se sitúa en el primer puesto [3,5].

Actualmente, el diagnóstico del glaucoma depende del tipo de patología, aguda o crónica. Si se habla de la crónica, donde la progresión es lenta a lo largo del tiempo, se puede ver que en los primeros estadios es una enfermedad asintomática, lo que dificulta su diagnóstico. La pérdida de visión periférica ocurre de manera gradual y no homogénea. Esto implica que el paciente, no percibe una pérdida de su capacidad visual hasta que la enfermedad ha avanzado notoriamente [5].

Las pruebas más importantes para evaluar la presencia o el estado de la enfermedad son las que tienen que ver con el examen de la cabeza del nervio óptico y la capa de fibra nerviosa retinal en la parte periférica del globo ocular [6]. Actualmente, la observación del disco óptico es la única manera de diagnosticar el glaucoma en sus primeros estadios, donde todavía no hay una pérdida de visión evidente. En este ámbito, la tomografía óptica coherente es una técnica que por su gran resolución espacial permite una buena evaluación de la zona dañada [6,7]. También son interesantes las pruebas que permiten medir aumentos de PIO, factor de riesgo de esta enfermedad, como la tonometría [8] o estudios que permitan la evaluación del campo de visión de la persona afectada como la campimetría [9].

Dada la importancia de conocer los movimientos oculares [10] se están incorporando nuevas tecnologías que faciliten esta monitorización. Este es el caso de las tecnologías de seguimiento de la mirada, también conocidas como *eye-tracking*. En los últimos años, estas tecnologías de seguimiento de mirada han aparecido como una importante herramienta de análisis en diversos campos de estudios como la evaluación de procesos formativos, la psicología, el marketing, la construcción y la medicina [12–15].

En este contexto, el presente trabajo propone el uso de herramientas de *eye-tracking* para realizar un apoyo a la valoración clínica de las limitaciones visuales de pacientes de glaucoma. Es por esto por lo que el objetivo principal es la implementación de un entorno virtual integrado con tecnología de seguimiento de mirada para poder realizar una evaluación objetiva de la capacidad visual de pacientes con la enfermedad de glaucoma y realizar un estudio comparando los resultados de pacientes y de personas sanas.

2. Material y métodos

2.1. Simulador virtual integrado con eye tracking

El presente trabajo de investigación implementa un simulador virtual que consta de un circuito de conducción con diversos obstáculos, fijos y móviles. Para construir este simulador, se ha usado el entorno Unity 3D.

La base del entorno es un plano con elevaciones que asemejan a un paisaje natural, con una carretera de cuatro carriles por las que circulan coches, donde además aparecen árboles en la escena y hojas volando que cumplen la función de elementos distractores. En el entorno se visualiza también el coche controlado por el sujeto, además de otros vehículos que se han definido como colisionables; es decir, en caso de choque, se almacena la información en los datos obtenidos cuando se finalice la prueba. Estos elementos se pueden observar en la Figura 1.



Figura 1. Ejemplo de vista del entorno virtual, donde se visualiza el coche controlado por el participante así como con elementos distractores (árboles y vehículos)

La interacción con el vehículo se lleva a cabo mediante teclado y se permiten los movimientos de izquierda a derecha. Aunque la velocidad del vehículo es constante se incluye también una tecla de parada para frenar en caso de ser necesario (como por ejemplo ante la aparición de un paso de peatones, como se puede ver en la Figura 2).



Figura 2. Ejemplos de elementos distractores del entorno virtual: paso de peatones y hojas

El simulador incorpora el dispositivo Tobii EyeX (Tobii technology, Estocolmo, Suecia), con el que se lleva a cabo la monitorización y seguimiento de mirada. Las métricas de interés capturadas por el sistema se pueden subdividir en dos grandes grupos [16].

- Sacadas o saltos sacádicos: movimientos rápidos del ojo, donde no se obtiene información nueva. Para su evaluación se habla de su amplitud y de su velocidad.
- Fijaciones: momentos entre sacadas donde los ojos permanecen fijos en un punto. Es aquí donde se obtiene información de una escena. Es interesante el estudio de la duración y el número de fijaciones presentes.

2.2. Experimento de validación

El experimento propuesto en este trabajo cuenta con dos grupos de participantes diferenciados, controles voluntarios sin enfermedades oculares, y pacientes con patología de glaucoma. De ambos grupos, se recoge información referente a la edad, el sexo, y el uso o no de gafas o lentes de contacto. Además, para el grupo de pacientes se incluye la medida del defecto medio del campo visual (MD).

Los sujetos se deben sentar en un taburete y apoyar la frente y la barbilla en un soporte cuya altura se puede regular. Este soporte ayuda a limitar los movimientos de cabeza para que así no afecten al resultado final de la prueba. La prueba se realiza de manera binocular. En la Figura 3 se puede ver un esquema del montaje.



Figura 3. Montaje del experimento

Los datos recogidos durante el experimento son la duración media y el número de fijaciones, la longitud y velocidad de los movimientos sacádicos. Además, se incluye la ratio de fijaciones/sacadas y parámetros que tienen que ver con el propio simulador, como la duración de la prueba y el número de colisiones el número de veces que ha sido necesario redireccionar el coche del participante.

Para el análisis de la información referente al seguimiento de mirada se emplea el programa OGAMA (Dr. Adrian Vosskühler, Freie Universität Berlin). Se emplea el test de Mann-Whitney (distribuciones no normales) para comparar valores entre poblaciones, y se toma un valor de p=0.05 para determinar la significancia estadística. Se implementa usando el programa IBM SPSS.

3. Resultados y discusión

La prueba de validación se ha llevado a cabo en el Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico San Carlos.

Se ha contado con 57 sujetos: 23 controles (16 hombres y 7 mujeres) de edad media de 38 años (desviación 21.76 años) y 34 pacientes (12 hombres y 22 mujeres) con una media de 68 años (desviación 12.96 años).

3.1. Análisis de fijaciones

Los resultados obtenidos se han reunido en la Tabla 1. Prestando atención a la duración media de las fijaciones, se puede afirmar que los controles tienen fijaciones de menor duración (p=0.29), lo que es consistente con los resultados obtenidos en Kübler et al. [17], y Crabb et al. [18]. Sin embargo éste último contempla que además de menor duración los pacientes presentan mayor número de fijaciones, dato que no se corresponden con los obtenidos en esta investigación (p=0.06). En cuanto al ratio de fijaciones/sacadas se puede ver que los controles tienen un valor mayor (p=0.14). Es notable destacar que ninguno de estos parámetros parece tener una diferencia significativa, como se puede apreciar por los valores de p, y además que los datos de los pacientes parecen más diferentes entre sí. Esto se puede ver tanto en la elevada desviación típica (SD) como en los diagramas de la Figura 4.

	Control		Paciente	
	Media	SD	Media	SD
Duración (ms)	410,21	97,82	439,66	116,81
Número	385,22	90,31	337,18	108,34
Fijaciones/Sacadas	771,83	91,76	708,33	145,48



Figura 4. Diagramas Boxplots referentes al análisis de las fijaciones

Por otro lado, una manera diferente de analizar las fijaciones es a través de su distribución espacial. Para ello se generan mapas de atención (Figura 5) que indican los puntos donde los sujetos han prestado atención para dar una mejor idea de su patrón de mirada.



Figura 5. Mapas de atención totales de controles (arriba) y pacientes (abajo). Los círculos negros destacan las zonas donde está presente la dispersión

En la figura anterior se puede apreciar cómo el grupo control tiene una distribución más irregular, con puntos en zonas exteriores de la pantalla, mientras que el grupo de pacientes presenta una distribución mucho más concentrada en la zona central de la pantalla. Esta información se corresponde con lo esperado, ya que los pacientes con glaucoma tienden a perder visión en las zonas periféricas.

3.2. Análisis de los movimientos sacádicos

Analizando los datos de la Tabla 2, se puede apreciar cómo tanto la longitud (p=0.02) como la velocidad (p=0.03) de las sacadas son mayores en el grupo control. Se puede añadir también que estas diferencias sí aparecen como significativas puesto que han obtenido un nivel de p menor que 0.05. Estos resultados son similares a Asfaw et al. [19] y Kübler et al. [17]. La Figura 6 confirma las diferencias entre los resultados de ambos grupos e ilustran que la dispersión de los datos no es tan grande como se veía en el análisis de las fijaciones.

	Contr	ol	Paciente		
	Media SD Medi		Media	SD	
Longitud (px)	77,16	15,37	64,57	13,07	
Velocidad (px/s)	1,37	0,37	1,15	0,37	

Tabla 2. Comparativa del análisis de movimientos sacádicos



Figura 6. Diagramas Boxplots referentes al análisis de las sacadas

3.3. Análisis de la actividad

En este apartado se incluyen los resultados obtenidos en la prueba respecto a la actividad: el tiempo de duración, las colisiones sufridas y los redireccionamientos necesarios. Todos los valores son menores en el grupo control. En el caso del tiempo y de los redireccionamientos, el test estadístico indica que esta diferencia no alcanza a ser significativa, (p=0.28 y p=0.15, respectivamente). Sin embargo, el número de colisiones sí que presenta una diferencia significativa (p=0.02). No obstante, hay que tener en cuenta otros factores como la dificultad relativa del juego, el manejo de las teclas del ordenador por parte de los sujetos y el nivel de atención en estos.

	Control		Paciente	
	Media	SD	Media	SD
Tiempo (ms)	195078,65	1799,71	196123,74	2525,96
Colisiones	3,26	3,00	5,29	3,57
Redireccionamientos	0,00	0,00	3,68	15,34

 Tabla 3. Comparativa del análisis de los resultados de la prueba

4. Conclusiones

El glaucoma es una enfermedad grave, y una de las mayores causantes de ceguera irreversible en el mundo. Su expansión global pone en manifiesto la necesidad de desarrollar nuevas técnicas diagnósticas, para poder conseguir un diagnóstico temprano mejorando así el tratamiento y la calidad de vida de los pacientes.

Este trabajo de investigación presenta un entorno de realidad virtual que incorpora un sistema de seguimiento para la validación clínica del glaucoma. La prueba de concepto llevada a cabo y su validación con 57 sujetos muestra el potencial de la tecnología de seguimiento de mirada para determinar diferencias entre personas sanas y con patología. Sin embargo, es necesario seguir realizando estudios que respalden los resultados obtenidos en esta investigación, con una mayor muestra poblacional con diferentes grados de enfermedad.

Referencias

- M. A. M. Villate, J. D. B. Méndez, y J. E. P. Echeverry, «Anatomía quirúrgica del ojo: Revisión anatómica del ojo humano y comparación con el ojo porcino», *Morfolia*, vol. 8, n.º 3, pp. 21-44, sep. 2016.
- [2] B. García, P. De Juana, F. Hidalgo, y T. Bermejo, «Capitulo 15. Offlamología», en *Farmacia Hospitalaria- Tomo 2*, M. C. Gamundi Planas, Ed. 2002.
- [3] R. N. Weinreb, T. Aung, y F. A. Medeiros, «The pathophysiology and treatment of glaucoma: A review», *JAMA - J. Am. Med. Assoc.*, vol. 311, n.º 18, pp. 1901-1911, 2014.
- [4] «Enfermedades de los ojos». [En línea]. Disponible en: https://medlineplus.gov/spanish/eyediseases.html. [Accedido: 04-jun-2019].
- [5] A. V. Mantravadi y N. Vadhar, «Glaucoma», Primary Care: Clinics in Office Practice, vol. 42, n.º 3. pp. 437-449, sep-2015.
- [6] S. P.-J. Jost B Jonas, Tin Aung, Rupert R Bourne, Alain M Bron, Robert Ritch y Glaucoma, «Glaucoma», *Lancet*, vol. 390, pp. 2083-93, 2017.
- [7] D. Spiegel, «Primary Open-Angle Glaucoma», *Encycl. Eye*, vol. 363, pp. 496-501, 2010.
- [8] J. Liu y C. J. Roberts, «Influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurement: Quantitative analysis», J. Cataract Refract. Surg., vol. 31, n.º 1, pp. 146-155, ene. 2005.
- [9] M. V. Boland *et al.*, «Comparative Effectiveness of Treatments for Open-Angle Glaucoma: A Systematic Review for the U.S. Preventive Services Task Force», *Ann. Intern. Med.*, vol. 158, n.º 4, p. 271, feb. 2013.
- [10] A. Crespo León, R. Cabestrero Alonso, y P. Quirós Expósito, «Metodología de investigación básica: parámetros oculares y procesamiento de la información».
- [11] M. Treisman et al., Eye Tracking Methodology, vol. 19, n.º 3. 2009.
- [12] A. T. Duchowski, «A breadth-first survey of eye-tracking applications», *Behav. Res. Methods, Instruments, Comput.*, vol. 34, n.º 4, pp. 455-470, nov. 2002.
- [13] D. E. Hannula, R. R. Althoff, D. E. Warren, L. Riggs, N. J. Cohen, y J. D. Ryan, «Worth a glance: using eye movements to investigate the cognitive neuroscience of memory», *Front. Hum. Neurosci.*, vol. 4, p. 166, oct. 2010.
- [14] Z. Boraston y S.-J. Blakemore, «The application of eyetracking technology in the study of autism», J. Physiol., vol. 581, n.º 3, pp. 893-898, jun. 2007.
- [15] P. Sánchez-González et al., «Eye Tracking Technology for monitoring surgeons" attention during box trainer tasks: a preliminary proof of concept», en *International Conference on Computer Assisted Radiology and Surgery (CARS).*, 2017.
- [16] K. Rayner, «Eye Movements in Reading and Information Processing: 20 Years of Research», Psychological Association, Inc, 1998.
- [17] T. C. Kübler *et al.*, «Driving with Glaucoma», *Optom. Vis. Sci.*, vol. 92, n.º 11, pp. 1037-1046, 2015.
- [18] D. P. Crabb et al., «Exploring eye movements in patients with glaucoma when viewing a driving scene», PLoS One, vol. 5, n.° 3, pp. 1-10, 2010.
- [19] D. S. Asfaw, P. R. Jones, V. M. Mönter, N. D. Smith, y D. P. Crabb, «Does glaucoma alter eye movements when viewing images of natural scenes? A between-eye study», *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 59, n.º 8, pp. 3189-3198, 2018.

Diseño y desarrollo de una aplicación para la formación de neurofisiólogos en la identificación de señales MER en cirugía de estimulación cerebral profunda.

M. Gómez-Tomé¹, M. Naranjo Castresana², P. Sánchez-González^{1,3}, C. Rizea², F. Vivancos², A. Rodríguez Sanz², Y. Herrero Infante², S. Marín Esteban², J.F. Paz Solís⁴, M. Román de Aragón⁴, E.J. Gómez^{1,3}, M.E. Hernando^{1,3}, I. Oropesa¹

¹Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica (CTB), Universidad Politécnica de Madrid, España,

{marcos.gomez.tome@alumnos.upm.es, psanchez@gbt.tfo.upm.es, egomez@gbt.tfo.upm.es, mariaelena.hernando@gbt.tfo.upm.es, ioropesa@gbt.tfo.upm.es}

²Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

{marta.naranjo@salud.madrid.org, cristian.rizea@salud.madrid.org,

fvivancos@hotmail.es, arsanz@salud.madrid.org, yherrero89@gmail.com, smeoc@hotmail.com}

³Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Zaragoza, España

⁴Servicio de Neurocirugía, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

{jfpaz@telefonica.net, mariaromanaragon@gmail.com}

Resumen

La estimulación cerebral profunda (ECP) es una técnica quirúrgica por la que se palían los síntomas de enfermedades neurológicas tales como la Enfermedad de Parkinson (EP). En la ECP, se lleva a cabo una inserción de microelectrodos (MER) cerebrales que registran la actividad neuronal, así como emiten pequeñas descargas para mejorar los síntomas del paciente. Uno de los retos formativos para los neurofisiólogos consiste en la identificación de la zona cerebral en la que se está implantando el electrodo. Dicha formación se suele llevar a cabo en el quirófano, con pacientes reales. En este trabajo se ha desarrollado una aplicación que permite entrenar la identificación de señales MER de forma offline a partir de registros pregrabados. El usuario debe reconocer las zonas cerebrales involucradas en función de la información visual y/o auditiva de la señal. La aplicación se validará con especialistas neurofisiólogos del Hospital Universitario La Paz (Madrid). Gracias a la aplicación especialistas médicos podrán comprobar si son capaces o no de reconocer las distintas áreas cerebrales involucradas para finalizar con éxito futuras intervenciones.

1. Introducción

La estimulación cerebral profunda (ECP) es una técnica que se utiliza para controlar ciertas áreas del cerebro con el fin de limitar los síntomas (fundamentalmente los de tremor) en enfermedades motoras (enfermedad de Parkinson (EP), distonía, tremor de Holmes...). Actualmente el uso de la ECP es cada vez más común en trastornos tales como el síndrome de Tourette, la epilepsia, el Alzheimer o la depresión, por lo que se espera que el uso de esta técnica se extienda cada vez más [1].

Esta cirugía se emplea fundamentalmente para el tratamiento de la EP cuando el uso de medicamentos no es suficiente o se requieren de altas dosis para controlar la enfermedad, siendo extremadamente útil en pacientes menores de 70 años, y con EP poco avanzada. Sin

embargo, no es un tratamiento que se aplique una vez sea identificado el problema, ya que presenta dificultades como pueden ser las posibles complicaciones de la intervención, el hardware de los dispositivos utilizados, o la calibración de la estimulación [2].

El objetivo de la cirugía ECP es la colocación de un implante de estimulación que permitirá controlar los impulsos nerviosos dañinos que se producen en esta zona como consecuencia de una enfermedad. La estimulación se puede realizar de formas muy distintas, pudiendo los médicos modificar los valores de voltaje y corriente en función de las necesidades del paciente. Habitualmente la intensidad de la estimulación aumenta conforme avanza la enfermedad [3].

Durante la primera fase de la ECP, los neurocirujanos introducen unos microelectrodos de registro (MER) que miden la activación neuronal, y que irán descendiendo desde el tálamo. El objetivo de esta exploración es localizar la zona donde se implantará el microelectrodo de estimulación final, a unos 10 mm desde el tálamo, en la zona sensoriomotora del núcleo subtalámico (NST). Los electrodos descienden hasta la sustancia nigra (SN) en pasos de 0,5 mm. En cada paso se obtienen registros que los neurofisiólogos deben reconocer a la perfección para poder localizar la zona óptima para estimular (diana) [4].

La determinación de la diana supone una de las principales dificultades de la ECP. A su vez, esta fase es una de las más importantes de la operación, ya que errores en la misma podrían desembocar en daños fatales al estimular áreas no dañadas por la enfermedad. Dependiendo de la zona en la que nos encontremos, la señal captada por los MER posee unas características u otras. Dichas características se resumen en la Tabla 1 [5]. Uno de los problemas en la formación de técnicas ECP es que el tiempo y los medios disponibles para el entrenamiento de neurocirujanos y neurofisiólogos son escasos. La formación se lleva a cabo a través de libros de texto, que en ocasiones no son lo suficientemente ilustrativos; cadáveres, cuya disponibilidad y coste no son siempre asumibles; y entrenamiento intraoperatorio supervisado. Esta modalidad es la más extendida, si bien dificulta el entrenamiento sistemático (las condiciones del paciente cambian de manera imprevisible) y puede afectar al tiempo y calidad de la intervención [6].

Zona cerebral	Rango de frecuencia	
Tálamo	$15\pm19~Hz/28\pm19~Hz$	
Subtálamo	$37 \pm 17 Hz$	
Sustancia nigra	$71 \pm 23 \text{ Hz}$	
Zona incierta	Muy baja, ausencia de neuronas	
Zona reticulada	Alta frecuencia, descargas	

 Tabla 1. Características de las señales de registro en función de la zona cerebral.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de una aplicación orientada a la formación de neurofisiólogos. La aplicación ofrece una alternativa de bajo coste y ubicua que permite al profesional entrenar la identificación de señales MER, a partir de registros pregrabados en intervenciones quirúrgicas de ECP. En este trabajo, se presenta un primer prototipo de la aplicación, diseñado en colaboración con el Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario La Paz (Madrid).

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

La aplicación consta de una base de datos de registros MER que serán usados para la formación. Los registros fueron adquiridos a partir de grabaciones intraoperatorias de pacientes con Parkinson en el Hospital Universitario La Paz. Las grabaciones intraoperatorias se llevaron a cabo mediante el sistema de monitorización ISIS MER System (Inomed Medizintechnik GmbH, Alemania) que cuenta con 3 canales (correspondientes a 3 microelectrodos de registro: central, anterior y lateral), además de todas las conexiones para registrar y aislar las señales. La tasa de muestreo de los registros es de 20kHz. En total, se tienen 390 registros, distribuidos por zonas de acuerdo con la Tabla 2.

Zona Cerebral	Registros 1 Canal	Registros 3 Canales
Tálamo	66	6
Zona Incierta	34	40
N. Subtalámico	154	28
Sustancia Nigra	49	13

Tabla 2. Número de señales de registro en función de la zonacerebral y del número de canales.

Los registros fueron analizados visual y auditivamente, además de ser identificados y seleccionados por un médico especialista en neurofisiología clínica del servicio. Dichos registros se exportaron desde el software Inomer MER, que es el que emplea el sistema de monitorización, obteniéndose un formato *.dat (Data File). Los registros en dicho programa se presentan tal y como se muestra en la Figura 1.



Figura 1. Ejemplo de registro en Inomer MER. Por filas se muestran los registros a distintas profundidades de exploración. Por columnas, se muestran los registros de cada uno de los 3 microelectrodos usados.

2.2. Procesado de la señal

De cara a poder usar los registros proporcionados por Inomer MER, se llevó a cabo un procesado de la señal consistente en los siguientes pasos (Figura 2). El resultado es una réplica del procesado que realiza el propio Inomer MER, de cara a garantizar que los registros se muestren igual que en el quirófano.



Figura 2. Flujo de procesado de los registros MER.

- Transformación: todos los registros fueron transformados a formato *.mat, usando un script elaborado por Inomed para ser importados en Matlab[®] R2017b (MathWorks, USA), donde se desarrolló la aplicación.
- Filtrado: De cara a eliminar artefactos de ruido se llevó a cabo un filtrado paso banda de la señal, mediante un filtro Butterworth de orden 9 y frecuencias de corte a 3 Hz y 5kHz. Esta fase es necesaria para equiparar la representación de la señal exportada a la mostrada habitualmente por Inomer (Figura 3).
- **Recorte:** todos los registros fueron recortados para tener una duración máxima de 60 segundos. De esta forma, se evita que registros muy pesados puedan comprometer el rendimiento de la aplicación.



Figura 3. Comparación de los registros sin procesar (arriba) y tras el procesado (abajo).

2.3. Funcionamiento de la aplicación

La aplicación está orientada a neurofisiólogos que quieran entrenarse en la identificación de señales MER a partir de la información visual y auditiva que proporcionan. La aplicación presenta secuencialmente registros de su base de datos, para los cuáles el usuario debe identificar las zonas subcorticales que los han generado. Al finalizar, el usuario podrá consultar las estadísticas de la sesión y revisar los fallos y aciertos obtenidos. La aplicación se divide en distintos módulos cuyo funcionamiento se explica a continuación.

El módulo **Inicio** da entrada a la aplicación. En él se elige el tipo de cirugía que se quiere practicar (actualmente solo está disponible la de Parkinson con diana en el núcleo subtalámico, aunque en un futuro se pondrá en funcionamiento la cirugía con diana en globo pálido), y el modo en el que quiere practicarse. También a partir de este módulo podemos acceder a las instrucciones de la aplicación. La interfaz de inicio se muestra en la Figura 4.



Figura 4. Interfaz de Inicio.

El módulo **Ejercicios** es el núcleo de la aplicación, donde el usuario llevará a cabo su entrenamiento. Este módulo es configurable, de tal forma que el usuario puede configurar el número de canales (uno/tres), y el modo de funcionamiento (entrenamiento/prueba). En función del número de canales, los modos disponibles son:

• **Modo 1 canal:** Este modo permite al usuario entrenar la identificación en base a un solo registro en una zona determinada.

• Modo 3 canales: Este modo permite al usuario entrenar la identificación en base a tres registros simultáneos, tal y como se observaría en una cirugía real.

Ambas interfaces se muestran a continuación en las Figuras 5 y 6. En ambos casos, el usuario debe visualizar y escuchar la/s señal/es e identificar, de entre todas las opciones posibles, cuál es la zona correcta.



Figura 5. Interfaz de modo 1 canal.



Figura 6. Interfaz de modo 3 canales.

Por otro lado, los modos de funcionamiento disponibles son:

• Modo de entrenamiento: el objetivo es que el neurofisiólogo pueda entrenar sin ningún tipo de restricción. Muestra los registros en el orden en el que aparecen en la cirugía, es decir, siguiendo el recorrido normal que realiza el MER tal y como se observa en la Figura 7. En ella se observa como el registro empieza en el tálamo (en el número 10, que indica 10 mm por encima de la diana), pasa por la zona incierta (ZI), sigue por el núcleo subtalámico (STN, donde se ubica la diana, con un registro de unos 5 mm de trayecto) y finalmente alcanza la sustancia nigra (SNR, a unos 3-5 mm por debajo de la diana).

En este modo se podrá visualizar cuando se quiera el módulo de estadísticas, pudiendo comprobar si nuestras respuestas son correctas o no mientras realizamos el cuestionario. Además, el número de registros mostrado es ilimitado.

 Modo de prueba: este modo está destinado a evaluar las capacidades del especialista. Muestra 12 registros en un orden aleatorio, es decir, no se sigue el recorrido normal del MER. Además, no se puede visualizar el módulo de estadísticas hasta que se dé por finalizada la prueba.



Figura 7. Recorrido que realiza el MER en la cirugía [5].

Finalmente, el módulo **Estadísticas** permite revisar los registros mostrados, comprobar si las respuestas son correctas, y revisar cada uno de los casos analizados. Tal y como ocurría con los modos, tenemos interfaces de estadísticas distintas para 1 y 3 canales. Estas interfaces pueden verse en las Figuras 8 y 9.



Figura 8. Interfaz de Estadísticas 1 canal.



Figura 9. Interfaz de Estadísticas 3 canales.

3. Resultados

Para poder evaluar la viabilidad de la aplicación, en los próximos meses se llevará a cabo una validación de apariencia y de contenidos con especialistas del Hospital Universitario La Paz. La validación se llevará a cabo empleando cuestionarios SUS (System Usability Scale) [8] ampliados con aspectos relacionados a los contenidos.

4. Conclusiones

La ECP es un tratamiento quirúrgico novedoso que ofrece una solución para aquellos pacientes donde los medicamentos han dejado de ser efectivos. Por ello, al ser una técnica muy reciente, los esfuerzos de los especialistas se centran en mejorar los resultados de la operación, así como en mejorar la formación en esta técnica para aprovechar al máximo los beneficios de dicho tratamiento.

En este trabajo hemos presentado el prototipo de una aplicación orientada a facilitar la formación de los neurofisiólogos implicados en la ECP. Futuras mejoras planeadas para la aplicación incluyen la incorporación de nuevas cirugías, la creación de nuevos modos que recreen con más fidelidad la interfaz de Inomer, o la incorporación de funcionalidades avanzadas de evaluación tales como la visualización de curvas de aprendizaje.

Todas las mejoras están supeditadas a los resultados que se obtengan de la validación de la aplicación. Actualmente la aplicación se encuentra instalada en el servicio del hospital a la espera de iniciar la validación. De su éxito dependerá su posible explotación. Se espera que esta aplicación sea un primer paso en el desarrollo de nuevas soluciones que apoyen en la formación en ECP de todo el personal involucrado en esta técnica.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a todos los pacientes y personal de los Servicios de Neurología y Neurofisiología Clínica y de Neurocirugía del Hospital Universitario La Paz por sus contribuciones a este trabajo, así como a Mar Sanjuán y Eduardo Alonso por su asistencia con Inomer.

Referencias

- Ramírez-Zamora A, Okun MS. Deep Brain Stimulation for the treatment of uncommon tremor syndromes. *Expert Review of Neurotherapeutics*, vol 16, sup 8, 2016, pp 983-997 (ISSN: 1473-7175).
- [2] Chan DT, Zhu XL, Yeung JH, Mok VC, et al. Complications of deep brain stimulation: a collective review. *Asian Journal* of Surgery, vol 32, sup 4, 2009, pp 258-263 (ISSN: 1015-9584).
- [3] Rossi P, Gunduz A, Judy J, Wilson L, et al. Proceedings of the third annual deep brain stimulation think tank: A review of emerging issues and technologies. *Frontiers in Neuroscience*, vol 10, sup 1, 2016, art 119 (ISSN: 1663-4365).
- [4] Weegink KJ, Bellete PA, Varghese JJ, Silburn PA, et al. A parametric simulation of neuronal noise from microelectrode recordings. *IEEE Transactions on neural* systems and rehabilitation engineering, vol. 25, no 1, 2017, pp 4-13 (ISSN: 1558-0210).
- [5] Hutchison WD, Allan RJ, Opitz H, Levy R, et al. Neurophysiological identification of the subthalamic nucleus in surgery for Parkinson's disease. *Annals of Neurology*. vol 44, 1998; pp. 622–628 (ISSN: 1531-8249).
- [6] Liu Y. Virtual neurosurgical education for Image-Guided Deep Brain Stimulation Neurosurgery, *IEEE International Conference on Audio, Language and Image Processing* (ICALIP), Shanghai, China. 2014 (ISBN: CFP1450D-POD).
- [7] Feldman LS, Sherman V, Fried GM. Using simulators to assess laparoscopic competence: Ready for widespread use? *Surgery*. vol. 135 (2004), pp. 28–42 (ISSN: 0039:6060).
- [8] Brooke J. SUS: a "quick and dirty" usability scale. En: Jordan PW, Thomas B, Weerdmeester BA. McClelland IL (Eds.) Usability Evaluation in Industry, 1996, pp. 189-194. London: Taylor and Francis.
Diseño e implementación de un entorno de formación para el entrenamiento de ecografía transcraneal neonatal

D. Palomino¹, A. Balado¹, J. Rubio², E. Valverde², M. Ybarra², I. Oropesa¹, E.J. Gómez^{1,3}, M. Quintana², M. E. Hernando^{1,3}, P. Sánchez-González^{1,3}

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

² Plataforma de simulación clínica y experimental (IdiPAZ). Servicio de Neonatología. Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Resumen

En el presente trabajo se presenta un entorno de formación para la técnica de ecografía neonatal transcraneal. Es un entorno orientado a la adquisición de habilidades técnicas y no técnicas requeridas durante el examen ecográfico. Posibilita la incorporación de un catálogo de casos y desempeño del análisis transcraneal a tiempo real. La introducción del entorno de formación en la práctica clínica real puede conseguir desligar a los pacientes neonatos del proceso formativo y conseguir una mayor calidad de formación de los médicos residentes en lo relativo a la técnica de ecografía neonatal transcraneal

1. Introducción

La ecografía neonatal transfontanelar es la prueba diagnóstica por excelencia para la detección de condiciones patológicas en los bebés prematuros. A pesar de ello, se trata de una técnica que requiere una gran destreza técnica durante el examen transcraneal. Un incorrecto manejo del transductor puede derivar en la infradetección de estructuras patológicas, y suponer por tanto una mala prognosis del paciente.

Actualmente el proceso formativo en la técnica de ecografía neonatal se encuentra directamente ligado al paciente. Los médicos residentes han de adquirir las habilidades técnicas necesarias a través de la práctica clínica. La inexperiencia de los residentes y dificultad de manejo de la sonda ecográfica, hacen que este proceso requiera largos tiempos de escaneo, generando incomodidad y malestar a los bebés prematuros. Todo ello deriva en una formación técnica limitada. Esto revela un amplio margen de mejora para ofrecer una formación práctica de calidad de la mano de las tecnologías de simulación clínica.

En el presente trabajo se propone un entorno de formación que ofrece una formación técnica de calidad, desligando a los pacientes prematuros del proceso formativo. El entorno de formación posibilita la ejecución de exámenes ecográficos a tiempo real sobre modelos 3D, permitiendo al usuario navegar entre los diferentes planos ecográficos a medida que mueve el transductor como si de la práctica real se tratase. Este aspecto tiene como objetivo fundamental familiarizar al alumno con el manejo de la sonda ecográficos.

2. Concepto

El entorno de formación propuesto se concibe como una plataforma que posibilita la adquisición de las habilidades técnicas actualmente adquiridas durante la práctica clínica. El entorno está concebido para su empleo por diferentes perfiles de usuarios, lo que permite gestionar la formación y contenidos mostrados a cada uno de los alumnos, ofreciendo una experiencia formativa personalizada y adaptada a cada nivel.

Una de las funcionalidades principales del entorno de formación consiste en un catálogo de casos en el cual se incorporan diferentes pacientes y patologías habituales en la práctica clínica. Esto permite a los usuarios adquirir los conocimientos y las habilidades necesarias para la identificación de los diferentes casos patológicos.

3. Diseño del entorno

El diseño del entorno de formación se realiza a través de entrevistas con el personal clínico del Hospital Universitario La Paz de Madrid, en concreto con el servicio de neonatología.

3.1. Definición de actores

Los principales actores que interactúan con el entorno de formación son:

- Actores principales:
 - Profesor: este usuario es capaz de personalizar el catálogo de casos que se muestra a cada uno de sus alumnos. De tal forma puede incorporar o eliminar casos en función de la dificultad y progreso de cada alumno. Además, puede ejecutar cualquiera de los casos incorporados en el entorno de formación.
 - Alumno: podrá ejecutar el examen ecográfico en cualquiera de los casos que el profesor le haya asignado.
- Actores secundarios:
 - Controladores externos: para la ejecución del examen ecográfico es necesario la incorporación de un dispositivo de seguimiento que proporcione información en tiempo real de la posición del transductor. Este dispositivo se conforma en un único módulo de transductor que imita las condiciones reales durante el examen

ecográfico en clínica y permite interactuar con el entorno de formación.

3.2. Arquitectura

El entorno está formado por dos módulos principales: hardware y software. En el lado hardware se encuentra el transductor de ultrasonidos, el dispositivo de seguimiento incorporado en el transductor y una placa de Arduino que envía los datos al ordenador en el que está albergada toda la tecnología software a través de un módulo wifi integrado. En el lado software, se pueden diferenciar:

- Servidor. Es el encargado de recibir y tratar los datos de posicionamiento enviados desde la placa de Arduino.
- Base de datos de imágenes. En ella se almacenan los registros de imágenes. Cada imagen tiene asociada una posición espacial y un ruta relativa dentro del equipo en el que se ejecuta el entorno de formación, indicando la carpeta en la que está almacenada.
- Base de datos de ejecución. En ella se almacenan los datos de posición derivados de la ejecución de los casos por parte de los usuarios. Estos datos resultan indispensables para llevar a cabo la evaluación de los casos llevados a cabo.
- Base de datos de usuarios. En ella se almacenan las credenciales de los usuarios registrados, diferenciando entre alumno y profesor.
- Aplicación web. La interfaz web es la encargada de mostrar las imágenes ecográficas. Se logra una visualización de imágenes a tiempo real a medida que el usuario mueve la sonda ecográfica.

En la Figura 1 se muestra el esquema de funcionamiento de la tecnología software del entorno de formación. En él se puede visualizar la interconexión e intercambio de información entre los distintos componentes que integran el sistema completo.

3.3. Componentes de la interfaz de usuario

Los componentes del entorno de formación son:

- Componente de Registro/Inicio de sesión. Permite el registro de nuevos usuarios. Una vez registrado, el módulo de inicio de sesión permite el acceso a la interfaz.
- Componente de selección de casos. En él se muestran todos los casos disponibles en el caso de que sea un usuario profesor. Si se trata de un usuario alumno, se muestran únicamente los casos que tenga habilitados.
- Componente de asignación de casos. Se trata de un módulo único para los usuarios profesores. En él el profesor puede realizar una asignación múltiple de casos a alumnos específicos. Además, puede consultar, editar y eliminar los casos ya asignados a cada alumno.
- Componente de calibración. Este componente aporta las instrucciones necesarias para llevar a cabo un correcto proceso de calibración, orientando la base del simulador físico.

 Componente de entrenamiento. Este módulo se encarga de mostrar las imágenes ecográficas a tiempo real durante la ejecución del examen ecográfico del usuario.



Figura 1. Diagrama UML para identificar el flujo de información entre los componentes software. El inicio del diagrama se corresponde con la llegada de datos al servidor desde la placa de Arduino y el fin con la visualización de las imágenes en el entorno de formación.

3.4. Diseño de la interfaz de usuario

Se lleva a cabo un diseño de la interfaz de usuario a través de criterios de usabilidad y entrevistas con el personal clínico del servicio de neonatología de HULP. Con ello se consigue un entorno de formación que se ajusta a las necesidades formativas requeridas en ecografía neonatal transcraneal. Además, se ofrece una interfaz de usuario sencilla e intuitiva que permite un proceso de aprendizaje rápido y una experiencia de usuario mejorada.

En las Figuras 2-4 se muestran diferentes vistas de los mockups relativos a los principales componentes de la interfaz de usuario, revelando las funcionalidades más importantes del entorno de formación.



Figura 2. Vista principal del componente de asignación de casos del usuario Profesor.



Figura 3. Vista principal del componente de selección de casos.



Figura 4. Vista principal del componente de entrenamiento.

4. Implementación

Para el desarrollo e implementación del entorno de formación se han utilizado:

- Arduino: encargado de la lectura de datos de posicionamiento y posterior envío al servidor vía wifi y a través de un protocolo de comunicación UDP.
- Node JS: en él se levanta el servidor que actúa como nodo principal del sistema global y comunica el resto de los componentes software.
- Angular JS: posibilita la interfaz de usuario y ejecución del examen ecográfico en tiempo real.
- Mongo DB: se utilizan bases de datos no relacionales para el almacenamiento de datos de posición, imágenes asociadas a cada posición espacial y datos de usuarios.

Además, para lograr un entorno de formación que permita una simulación realista se ha implementado e integrado un sistema hardware completo que posibilita la ejecución del examen ecográfico. Cabe destacar el *phantom* (Figura 5) creado mediante impresión 3D a partir de un estudio de resonancia magnética de un bebé. Su versión final se ha cubierto con una piel de látex rellenando las cavidades oculares y nasales de forma que se alcanzara un buen ajuste al cráneo impreso.

El módulo del transductor (Figura 5) posibilita el manejo del un transductor real a medida que se van registrando los datos de posicionamiento. Este registro se lleva a cabo con un sensor inercial MPU9250 6DOF, encargado de medir la orientación espacial de la sonda ecográfica. Este sensor se sitúa en la base del transductor con el fin de adquirir los datos de manera menos intrusiva para el usuario y, a su vez, no introducir error en la medición de la posición espacial.



Figura 5. Componentes hardware del sistema (izquierda) phantom y (derecha) transductor y dispositivo de seguimiento

A continuación, se describe la interfaz de usuario finalmente implementada. En primer lugar, cuando el usuario alumno accede a través del módulo de inicio de sesión, se muestra un componente de selección de casos vacío, dado que es un alumno de nuevo ingreso en el entorno de formación. Es necesario que el profesor asigne casos a este usuario de forma que se habiliten para el alumno.

Para poder habilitar los casos al alumno de nuevo ingreso, el profesor accede a su interfaz a través de sus credenciales en el módulo de inicio de sesión. Posteriormente accede al componente de asignación de casos, en el realiza una selección de los casos deseada.

Una vez habilitado el caso, el alumno puede acceder a él a través del entorno y se le permite realizar la actividad tantas veces como desee Esto le dará acceso al componente de calibración en el que se proporcionan las indicaciones necesarias para el correcto funcionamiento del simulador. Una vez completadas dichas instrucciones, se accede al componente de entrenamiento.

En las Figuras 6 y 7 se pueden visualizar dos de las vistas finales implementadas en la interfaz de usuario relativas al componente de asignación de casos y al componente de entrenamiento durante la ejecución de un examen ecográfico.



Figura 6. Componente de asignación de casos del usuario profesor. Selección del caso de ecografía neonatal transcraneal.



Figura 7. Componente de entrenamiento en el que se puede visualizar a tiempo real el examen ecográfico transcraneal realizado por el usuario

5. Validación del entorno

El entorno de formación se ha incorporado en un curso de neonatología en el Hospital Universitario La Paz, lo que ha permitido recopilar respuestas de personal clínico dedicado a la neonatología, estudiantes de máster y médicos residentes. En total, 6 personas han participado en esta fase de validación.

Para verificar el cumplimiento de los requisitos funcionales se realiza un cuestionario de usabilidad basado en el cuestionario SUS. En este cuestionario se incluyen preguntas que hacen referencia a la interfaz global. En él se evalúan aspectos como la robustez, sencillez, tiempo de aprendizaje necesario para manejar la interfaz o la impresión general de la interfaz.

Se realiza además un segundo cuestionario que tiene por objetivo evaluar aspectos más específicos del funcionamiento y componentes del entorno de formación. Se incluyen preguntas relativas al correcto funcionamiento de determinados componentes, botones de navegación, realismo de las imágenes ecográficas o manejo del transductor.

Tras analizar los cuestionarios de usabilidad (Figura 8), se pueden observar unos resultados positivos en cuanto a la sencillez, diseño, facilidad de uso e impresión general de la interfaz. Además, tal y como se pretendía, se obtienen resultados por debajo del 2 en las preguntas que hacen referencia a la lentitud, dificultad de uso o inconsistencia de la interfaz.



Figura 8. Resultados cuestionarios de usabilidad

Los resultados obtenidos en el cuestionario de evaluación de funcionalidades (Figura 9) son muy positivos en la gran mayoría de funcionalidades cubiertas por el entorno de formación. Se valoran como aspectos relativos los componentes de registro de usuarios, asignación de casos y selección de casos. También se consiguen buenos resultados en las cuestiones que hacen referencia a la complejidad o mal funcionamiento de algún componente, en las cuales los usuarios han valorado con puntuaciones inferiores al 2.



Figura 9. Resultados cuestionario de evaluación de funcionalidades

Por último, cabe destacar que en la pregunta relativa al manejo realista del transductor obtiene una puntuación algo inferior al resto, con una puntuación media de 4 sobre 5. Esto es debido a que aún no se cuenta con un base de datos de imágenes y posiciones suficiente para lograr una simulación completamente realista. Sin embargo, todos los usuarios estuvieron de acuerdo en que el entorno de formación es completamente válido para la identificación de planos estándar en las diferentes fontanelas y, en consecuencia, para una formación de calidad en ecografía neonatal transcraneal

6. Conclusiones

En este trabajo se presenta un entorno de formación para la técnica de ecografía neonatal transcraneal. Este entorno de formación soluciona la problemática principal detectada en la práctica clínica. Se desliga al paciente neonato del proceso formativo de los médicos residentes. Con ello se pretende generar un beneficio mutuo en ambas partes. Además, se posibilita la adquisición de habilidades técnicas a través de un entorno que amplía las posibilidades de la práctica clínica, pudiendo hacer frente a un catálogo de casos.

Referencias

- [1] Bronzino JD. The Biomedical Engineering Handbook. Vol 1. CRC Press, 1999 (ISBN: 084930461X).
- [2] Doarn CR, Adilova F, Lam D. Review of telemedicine in Uzbekistan. *Journal of Telemedicine and Telecare*, vol 11, sup 3, 2005, pp 135-9 (ISSN: 1357-633X).
- [3] Gómez JA, Galeano G, Fernández F. Circuito para la aceleración de la etapa de comparación de un algoritmo paralelo bioinspirado. Actas del 1 Congreso Español de Algoritmos Evolutivos y Bioinspirados (AEB'02), Cáceres, 2002, pp 410-5 (ISBN: 84-607-3913-9).

Sistema de asistencia al aprendizaje de patologías respiratorias para estudiantes de medicina

A. Talaminos Barroso¹, J. Reina Tosina¹, L. Roa Romero¹, P. Cejudo Ramos^{2,3}, E. Márquez Martín^{2,3}, F. Ortega Ruiz^{2,3}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {atalaminos, jreina, lroa}@us.es

² Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Madrid, España

Resumen

En este trabajo se presenta un modelo computacional destinado a estudiantes de Medicina para el entrenamiento y aprendizaje de diferentes patologías asociadas al sistema respiratorio. El modelo consta de una interfaz gráfica que permite el análisis por simulación de los comportamientos dinámicos de variables relacionadas con la función pulmonar bajo diferentes condiciones fisiopatológicas. El modelo se puede personalizar a partir de la introducción de variables asociadas a factores étnicos y antropométricos, tales como la edad, el sexo, el peso o la estatura. El modelo ha sido validado simulando diferentes experimentos fisiológicos y patológicos, mostrando su validez y aplicabilidad. Como resultado se presentan los comportamientos dinámicos de flujos y volúmenes pulmonares al simular una patología pulmonar de patrón restrictivo aplicado a mujeres de diferentes razas.

1. Introducción

Los avances tecnológicos están propiciando la aparición de simuladores computacionales cada vez más sofisticados para la adquisición de conocimiento en diversas áreas de la Medicina. [1]. Adicionalmente, y debido a diferentes cuestiones tanto éticas como económicas, este tipo de simuladores se presentan no sólo como un complemento de las clásicas metodologías de aprendizaje, sino también como una alternativa a la experimentación con animales en el campo de la investigación biomédica [2]. Otras posibles aplicaciones incluyen la comprobación de hipótesis científicas o el entrenamiento y formación continuada de los profesionales sanitarios.

Con relación al aprendizaje en Medicina, los simuladores computacionales ofrecen beneficios significativos para el estudiante, presentando entorno donde un sistemáticamente pueden explorarse condiciones hipotéticas o pocos comunes, interactuar con una versión simplificada de un proceso o sistema o modificar escalas de tiempo bajo un entorno económico, seguro y realista [3]. Asimismo, los simuladores pueden adaptarse al nivel formativo del alumno y habitualmente es posible planificar una serie de pruebas graduales e incrementales en cuanto a dificultad. Estas pruebas pueden repetirse tantas veces como sea necesario en las mismas condiciones, y además, los simuladores también pueden adaptarse a las necesidades y demandas de los usuarios gracias a la posible retroalimentación ofrecida por los mismos [4].

En general, los simuladores ejecutan modelos computacionales que tratan de reproducir la dinámica de sistemas reales bajo diferentes condiciones iniciales, con el fin de predecir distintos comportamientos de una forma relativamente sencilla y a bajo coste. Sin embargo, estos modelos computacionales son complejos y están destinados a usuarios expertos, por lo que personas sin conocimientos informáticos pueden encontrar dificultades en su utilización. Uno de los grandes impedimentos suele ser la ausencia de interfaces gráficas amigables o carentes de usabilidad y la imposibilidad de poder modificar los parámetros del modelo sin tener que revisar el código fuente del programa. Debido a estas dificultades, las herramientas de modelado computacional no suelen ser utilizadas para propósitos educativos en universidades y centros de enseñanza.

El objetivo de este trabajo es el diseño y desarrollo de un modelo computacional de la ventilación pulmonar con una interfaz gráfica adaptada a requisitos de accesibilidad y usabilidad. El modelo permite el análisis del comportamiento dinámico de la ventilación pulmonar y los volúmenes más representativos del sistema respiratorio a partir del establecimiento de su características antropométricas y raza, tanto en condiciones normales como en condiciones patológicas.

2. Descripción del modelo

2.1. Volúmenes y flujos en la función pulmonar

La evaluación de la función pulmonar es una herramienta fundamental para el estudio del estado fisiopatológico asociado al sistema respiratorio de un humano. Estas medidas tienen una gran variabilidad debido a que los factores pulmonares están estrechamente vinculados a características antropométricas, entre otras [5]. Esta evaluación permite diagnosticar patologías o complicaciones respiratorias.

Los valores teóricos utilizados en la práctica clínica están basados en estudios realizados en individuos sanos caucásicos de edad adulta. Esto representa una aproximación razonable a la realidad, aunque tiene limitaciones para otras poblaciones cuyo origen no es europeo. Otros estudios [5,6] se centran en caracterizar la variabilidad de la función pulmonar para abarcar un espectro más amplio de grupos poblacionales, incluyendo la raza y la evolución respiratoria en diferentes etapas de la vida, como la infancia.

Los volúmenes y flujos pulmonares medidos en las pruebas de función pulmonar [6] se presentan en la Tabla 1, con una lista de acrónimos, unidades y descripción.

Acrónimo	Unidad	Descripción
ERV	1	Volumen de reserva espiratorio
FEV1	1	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FVC	1	Capacidad vital forzada
FEV1/FVC	-	Relación de FEV1 y FVC
FRC	1	Capacidad residual funcional
IC	1	Capacidad inspiratoria
IRV	1	Volumen de reserva inspiratorio
PEF	l/min	Pico de flujo espiratorio
RV	1	Volumen residual
TLC	1	Capacidad pulmonar total
Vent	l/min	Ventilación
VC	1	Capacidad vital
VT	1	Volumen tidal

 Tabla 1. Lista de variables respiratorias utilizadas en las pruebas de función pulmonar

La influencia de la raza y la etapa infantil se han considerado en la personalización de los volúmenes y flujos respiratorios, al contrario que otros trabajos que únicamente tienen en cuenta los factores antropométricos. Las ecuaciones consideradas en el modelo matemático [5-8] se han obtenido de estudios existentes en la literatura sobre el análisis de la variabilidad de la función pulmonar.

El modelo computacional y la interfaz gráfica han sido implementados en el lenguaje de programación MATLAB, lo que facilita su portabilidad a otros sistemas operativos. Para la accesibilidad y usabilidad de la interfaz gráfica se ha seguido la norma ISO 9241-11:2018 [9].

2.2. Modelo computacional

Las variables FEV1, FVC, FEV1/FVC, FRC, PEF, RV, TLC, Vent, VT se calculan en el modelo matemático propuesto en este trabajo a partir de los factores antropométricos y raza de la persona simulada [5].

En las ecuaciones (1), (2), (3), (4), (5) y (6) permiten cálcular las variables más significativas en la práctica clínica [10], incluyendo el FEV1 para mujeres adultas $(FEV1_m)$, el FEV1 para hombres adultos $(FEV1_h)$, el FVC para mujeres adultas (FVC_m) , el FVC para hombres adultos (FVC_h) , la relación FEV1/FVC para mujeres adultas $(FEV1/FVC_m)$ y la relación FEV1/FVC para hombres adultos $(FEV1/FVC_h)$:

$$FEV1_m = (0.089 \cdot h \cdot \mu - 0.025 \cdot a - 1.932) (1 - f_{FEV1}) \quad (1)$$

$$FEV1_h = (0.092 \cdot h \cdot \mu - 0.032 \cdot a - 1.26) (1 - f_{FEV1}) \quad (2)$$

$$FVC_m = (0.115 \cdot h \cdot \mu - 0.024 \cdot a - 2.852) (1 - f_{FVC}) \quad (3)$$

$$FVC_h = (0.148 \cdot h \cdot \mu - 0.025 \cdot a - 4.241) (1 - f_{FVC}) \quad (4)$$

 $FEV1/FVC_m = (88.7 - 0.0679 \cdot h \cdot \mu - 0.1815 \cdot a) (1 + f_{FEV1/FVC})$ (5)

$FEV1/FVC_h = (107.12 - 0.311 \cdot h \cdot \mu - 0.242 \cdot a) (1 + f_{FEV1/FVC})$ (6)

donde *h* es la altura en cm, μ es un factor de corrección de unidades, *a* es la edad en años, mientras que f_{FEV1} , f_{FVC} y $f_{FEV1/FVC}$ son factores adimensionales de corrección de la raza [11] para el FEV1, FVC y FEV1/FVC respectivamente. En la Tabla 2 se presentan los valores para cada uno de estos factores considerando el sexo y los grupos étnicos afroamericano, asiático del noreste, asiático del sudeste y mixto/otros.

Sexo	Raza	f_{FEV1}	f_{FVC}	$f_{FEV1/FVC}$
Mujer	Afroamericano	0.147	0.155	0.008
Mujer	Asiático noreste	0.027	0.036	0.009
Mujer	Asiático sudeste	0.097	0.123	0.028
Mujer	Mixto/otros	0.068	0.079	0.011
Hombre	Afroamericano	0.138	0.144	0.006
Hombre	Asiático noreste	0.007	0.021	0.011
Hombre	Asiático sudeste	0.13	0.157	0.029
Hombre	Mixto/otros	0.068	0.079	0.011

Tabla 2.	Factores de corrección para el FEV1, el FVC y la
	relación FEV1/FVC a partir de la raza

Las ecuaciones para el cálculo del FEV1 ($FEV1_n$), FVC (FVC_n) en niñas y niños (entre 2 y 18 años) se presentan en (7) y (8) [8]:

$$FEV1_n = e^{-1.74 + 0.016 \cdot h + 0.0017 \cdot a + 0.036 \cdot s}$$
(7)
$$FVC_n = e^{11.1 + 2.37 \cdot \ln(h) + 0.0016 \cdot a - 0.61 \cdot s + 0.13 \cdot \ln(h) \cdot s}$$
(8)

donde h es es la altura en cm, a la edad en años y s el sexo (niña = 0, niño = 1). Estas ecuaciones son consideradas para niños y niñas de todas las razas, dado la falta de estudios sobre estos aspectos en la población infantil.

Debido a la importancia de la inspiración y espiración en el diagnóstico de enfermedades respiratorias, estas dos fases han sido separadas en el modelo, tomando como base de cuantificación el trabajo propuesto por Barnea [7]. Así, las ecuaciones para el cálculo del flujo inspiratorio Q_i y el volumen inspiratorio V_i se proponen en (9) y (10) respectivamente:

$$Q_i(t) = P(i) \cdot TLC \left(1 - e^{-\frac{1}{RC}}\right) \left(FVC - V_i(t)\right), 0 \le t \le t_i \quad (9)$$
$$V_i(t) = \int_0^{t_i} Q_i(\xi) d\xi \quad (10)$$

donde t_i es el tiempo de inspiración, R es la resistencia en las vías respiratorias, TLC es la capacidad total pulmonar y P es la presión desarrollada en los pulmones y calculada a partir de una función de activación E(t) de acuerdo a la ecuación (11):

$$P(t) = E(t)(FVC - V_i(t)) \quad (11)$$

Por otra parte, para el cálculo del flujo espiratorio y el volumen espiratorio se proponen las ecuaciones (12) y (13):

$$Q_{e}(t) = \frac{E_{max}}{R(V_{e})} \left(1 - e^{-\frac{t}{RC}}\right) \left(FVC - V_{e}(t)\right); 0 \le t \le t_{e}(12)$$
$$V_{e}(t) = \int_{0}^{t_{e}} Q_{e}(\xi) d\xi \quad (13)$$

donde t_e es el tiempo de espiración, FVC es la capacidad vital forzada y el cálculo de la resistencia a las vías respiratorias ($R(V_e)$) a partir del volumen espiratorio se ha aproximado por la ecuación del trabajo de Barnea [7]. Por otra parte, para el cálculo de la superficie corporal (BSA) se han introducido diferentes algoritmos de cálculo [12] que pueden ser seleccionados por el usuario.

Se ha propuesto dividir la interfaz gráfica en dos partes. En la parte de la izquierda se encuentran los parámetros de entrada al modelo, que incluyen los factores antropométricos, raza, estado sano o enfermo, tipo de patología (obstructiva, restrictiva o mixta) y grado (baja, media y alta), la fórmula utilizada para el cálculo del BSA (por defecto la fórmula Mosteller), así como el tiempo de que se desea dure la simulación. Otros parámetros son la intensidad del ejercicio físico y la activación/desactivación de respiraciones forzadas, los cuales pueden ser modificados en tiempo de ejecución.

En el lado derecho de la pantalla se muestra el comportamiento en tiempo real de las variables seleccionadas por el usuario. En este sentido, en la Figura 1 se representa la evolución temporal del volumen pulmonar total. También se presentan los valores obtenidos de FEV1, FVC y la relación FEV1/FVC, así como algunos volúmenes estáticos considerados en el modelo.

2.3. Validación del modelo computacional

Para verificar la validez del modelo desarrollado se han realizado diferentes tipos de experimentos en condiciones normales y patológicas, comparando los resultados obtenidos con trabajos de otros autores. Como ejemplo de validación, en este trabajo se presenta la evolución del volumen total pulmonar considerando un hombre sano, caucásico, de 35 años, peso 75 kg, altura 178 cm en condiciones de reposo y con respiraciones forzadas. Los resultados se compararon con los presentados por el profesor West en su tratado de fisiología respiratoria [6].

En la Figura 1 se presenta la interfaz gráfica del modelo desarrollado para la simulación validada, tanto las variables de entrada en la parte izquierda de la pantalla, como los comportamientos del volumen pulmonar y los valores seleccionados, mostrando una buena correspondencia con los resultados de referencia [6]. En esta figura se muestra el volumen pulmonar con respecto al tiempo en condiciones normales y considerando tres espiraciones forzadas, lo que permite recorrer todo el conjunto de valores fisiológicos normales para asegurar la robustez del modelo. El programa permite la configuración de los ejes X e Y de la salida gráfica a las diferentes variables consideradas en el modelo.

3. Resultados

Una vez validado el modelo se han realizado experimentos para demostrar su usabilidad y aplicabilidad para el aprendizaje de estudiantes de Medicina, considerando diferentes simulaciones para comprobar la capacidad de reproducibilidad del modelo de algunos de los patrones más significativos asociados a anormalidades respiratorias.

Se presentan los resultados obtenidos al simular cuatro mujeres, una sana y el resto con una enfermedad pulmonar con patrón restrictivo, de diferentes razas (caucásica, afroamericana y asiática del noreste) y de talla y peso similar. Este patrón restrictivo está caracterizado por un decremento en el volumen pulmonar debido a alteraciones en la caja torácica o en la musculatura respiratoria.

En la Figura 2 se presenta la relación entre el flujo pulmonar y el volumen respiratorio total para los cuatro casos considerados. Los parámetros establecidos para cada una de las simulaciones han sido tomados de la Tabla 2, considerando las ecuaciones (1-6), alterando la FVC y aumentando la resistencias en las vías respiratorias (R) en las ecuaciones (10-11). Tal y como puede observarse en las pendientes del flujo durante la espiración y en la anchura del ciclo para los tres casos con patología, la FEV1 y la FVC se encuentran disminuidas respecto al caso normal, pero con una caída de análoga magnitud. Como consecuencia, la relación FEV1/FVC se mantiene inalterable o incluso levemente incrementada. Estos comportamientos son propios de este tipo de patrón pulmonar restrictivo [13].



Figura 2. Interfaz gráfica desarrollada para el modelo propuesto



Figura 2. Relación flujo/volumen para una mujer sana caucásica y para tres mujeres de diferentes razas con una patología pulmonar de patrón restrictivo

Con respecto a las diferencias étnicas, en la misma figura se observa el desplazamiento hacia la derecha de las curvas para la mujer afroamericana y asiática con respecto a la mujer caucásica. Esto es debido a que las afroamericanas poseen una TLC un 10-15% más bajo que las caucásicas [14], mientras que la caída en las asiáticas es aún mayor (alrededor de un 15-20% respecto a las caucásicas [15]) dado que poseen unos pulmones más pequeños. En consecuencia, la FVC en afroamericanas y asiáticas es más baja que en caucásicas, siendo la de las asiáticas ligeramente superior a la de las afroamericanas [11]. Finalmente, las diferencias de la relación FEV1/FVC entre diferentes razas no son significativas, aunque sí lo son con respecto al FEV1 y FVC por separado [16].

4. Conclusiones

Se ha desarrollado un modelo computacional centrado en la fisiología respiratoria para el entrenamiento de estudiantes de Medicina. El modelo permite la personalización en tiempo real a partir de factores antropométricos, raza y patología, simulando diferentes enfermedades pulmonares obstructivas y restrictivas mediante la obtención por simulación de flujos, volúmenes y curvas flujo/volumen asociados al sistema respiratorio.

Una interfaz gráfica de usuario ha sido desarrollada para la introducción de los datos de entrada y la representación gráfica de variables definidas por el usuario, siguiendo estándares de usabilidad y accesibilidad requeridos para este tipo de interfaces hombre-máquina.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por el "Fondo de Investigaciones Sanitarias", Instituto de Salud Carlos III, bajo el proyecto PI15/00306, en parte por la "Fundación Progreso y Salud", Gobierno de Andalucía, bajo el proyecto PIN-0394-2017, en parte por la "Fundación Mutua Madrileña", bajo el proyecto "VÍA-RENAL" y en parte por el "Programa Eurostar", Comisión Europea, bajo el proyecto "FRAIL".

Referencias

[1] Gunabushanam G, Nautsch F, Mills I, Scoutt LM. Accessible Personal Ultrasound Training Simulator. *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol 38, no 6, 2019, pp. 1425-32 (ISSN:1550-9613).

- Aulock S. Is there an end in sight for animal testing? *ALTEX* - *Alternatives to animal experimentation*, vol 36, no 1, 2019, pp. 142-4 (ISSN: 1868-8551).
- [3] Rutten N, van Joolingen WR, van der Veen JT. The learning effects of computer simulations in science education. *Computers & Education*, vol 58, no 1, 2012, pp 136-53 (ISSN: 0360-1315).
- [4] Frank EM. Healthcare Education: Integrating Simulation Technologies. Pre-Service and In-Service Teacher Education: Concepts, Methodologies, Tools, and Applications, pp 1045-64, 2019 (ISBN: 1522573054).
- [5] Ionescu C. Lung Function Testing in the 21st Century, Academic Press, 2019 (ISBN: 0128146125).
- [6] West JB. Respiratory Physiology: The Essentials, 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2012 (ISBN: 9781609136406).
- [7] Barnea O, Abboud S, Guber A, Bruderman I. New modelbased indices for maximum expiratory flow-volume curve in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Computers in Biology and Medicine*, vol 26, no 2, 1996, pp. 123-31 (ISSN: 0010-4825).
- [8] Koopman M, Zanen P, Kruitwagen CLJJ, van der Ent CK, Arets HGM. Reference values for paediatric pulmonary function testing: The Utrecht dataset. *Respiratory Medicine*, vol 105, no 1, 2011, pp. 15-23 (ISSN: 0954-6111).
- [9] Arthana IKR, Pradnyana IMA, Dantes GR. Usability testing on website wadaya based on ISO 9241-11. J. Phys.: Conf. Ser., vol 1165, 2019, pp. 1-8.
- [10] Morris JF, Temple W. Spirometric 'lung age' estimation for motivating smoking cessation. *Preventive Medicine*, vol 14, no 5, 1985, pp. 655-62 (ISSN: 0091-7435).
- [11] Stocks J, et al. All-age multi-ethnic reference values for spirometry: The global lung function initiative (GLI). *European Respiratory Journal*, vol. 40, sup 56, 2012, p. P3198 (ISSN: 1399-3003).
- [12] Schmidt CWP. Body Surface Area (BSA). Pediatric Oncologic Pharmacy: A Complete Guide to Practice, Springer International Publishing, p 141, 2019 (ISBN: 9783030109882).
- [13] Pan J, et al. All-cause and cause-specific mortality from restrictive and obstructive spirometric patterns in Chinese adults with and without dyspnea: Guangzhou Biobank Cohort Study. *Respiratory Medicine*, vol 151, 2019, pp 66-80 (ISSN: 0954-6111).
- [14] Menezes AMB, et al. African ancestry, lung function and the effect of genetics. European Respiratory Journal, vol 45, no 6, 2015, pp. 1582-9 (ISSN: 1399-3003).
- [15] Yang TS, Peat J, Keena V, Donnelly P, Unger W, Woolcock A. A review of the racial differences in the lung function of normal Caucasian, Chinese and Indian subjects. *Eur. Respir. J.*, vol 4, no 7, 1991, pp. 872-80 (ISSN: 1399-3003).
- [16] Quanjer PH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. European Respiratory Journal, vol 40, no 6, 2012, pp 1324-43 (ISSN: 1399-3003).

Metodologías para el incremento de la motivación del alumnado y la optimización de la acción tutorial lectiva en laboratorios de ingeniería biomédica

P. Sánchez-González^{1,2}, G. García- Saez^{1,2}, E. González-Toldos¹, D. Moreno-Blanco, I. Oropesa¹, M.E. Hernando^{1,2}, E.J. Gómez^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; {psanchez, ggarcia, ioropesa, dmoreno, elena, egomez}@gbt.tfo.upm.es

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

Resumen

El aumento de la motivación del alumnado y el máximo aprovechamiento de las horas lectivas de laboratorio son dos preocupaciones constantes de los docentes. La primera, se aborda en el presente trabajo con la incorporación de elementos gamificadores en el aula, a través de cuestionarios creados con la herramienta Kahoot!. Para la segunda, se presenta una herramienta de gestión de turnos con la que se busca mejorar la acción tutorial en los laboratorios y reducir la potencial frustración que se genera durante las esperas.

1. Motivación

La motivación es un aspecto fundamental en el aprendizaje que predispone al alumno a participar e involucrarse, lo cual aumenta notablemente su aprovechamiento docente. Según una revisión sistemática reciente [4], los beneficios de la gamificación en la motivación y compromiso a corto plazo de los estudiantes está demostrado, mostrándose así mismo evidencias de su efectividad a largo plazo.

La competitividad bien estructurada puede tener una influencia positiva en la motivación del alumno. Así, se deben tener en cuenta una serie de principios a la hora de diseñar una competición entre alumnos para maximizar el objetivo de la misma e incentivar una competitividad sana entre ellos [2]. En primer lugar, otorgar un premio muy significativo relacionado con la calificación final de la asignatura puede provocar que la importancia del premio sobrepase el valor del aprendizaje. Además, la duración y extensión de la competición tiene un efecto importante sobre la enseñanza y el aprendizaje. Así, una competición larga indica una mayor importancia de esta, disminuyendo su valor como factor motivador de la docencia y el interés que debe provocar al alumno. Por último, y en relación con el primer punto, el docente no debe enfatizar la competición y el premio correspondiente, sino los conocimientos y competencias necesarios para el concurso. Además, los alumnos deben estar convencidos de que todos tienen las mismas posibilidades de ganar, siempre que lleven a cabo un esfuerzo previo de repaso de los conceptos teóricos. De esta manera los alumnos no priorizarán el premio sobre el conocimiento y se incentivará un mayor esfuerzo en el aprendizaje.

Por otra parte, para mejorar el aprovechamiento de las horas en los laboratorios docentes, se hace imprescindible

llevar a cabo una acción tutorial lectiva, para poder atender de forma individualizada las necesidades del alumnado. La tutoría en el aula, por tanto, se presenta como medio necesario para el logro de una formación personalizada, que favorece una formación integral en conocimientos y destrezas, así como la mejora del rendimiento durante la realización de las prácticas en los laboratorios.

Una limitación existente para alcanzar unas tutorías eficaces estriba en el orden de las peticiones de las mismas. Así, tradicionalmente, los alumnos que necesitan ayuda durante la práctica elevan su mano y es el profesor quien se dirige hasta su puesto de trabajo. Estas situaciones son fácilmente manejables por el docente cuando el número de alumnos no es elevado. Sin embargo, cuando se incrementa el número de alumnos y aumentan considerablemente las peticiones, es muy fácil que el profesor no retenga el orden de petición de las nuevas tutorías (haciendo esto que haya alumnos que esperen más tiempo que otros, aun cuando hayan levantado ellos la mano antes). Ante esto, los alumnos pueden verse frustrados en el laboratorio, frustración que puede repercutir también en un decremento de la motivación.

2. Solución propuesta

Este trabajo propone una aproximación a los dos problemas arriba detectados, con un abordaje multidominio.

2.1. Motivación del alumnado

Para incrementar la motivación del alumnado, se propone el uso de la aplicación Kahoot! en el aula. Existen evidencias de que Kahoot! mejora el rendimiento académico en clase [3], así como que fomenta el trabajo en equipo y la colaboración, aumenta la motivación y el interés por los contenidos y es bien recibida por los alumnos[4].

En este estudio se propone la realización de un cuestionario basado en Kahoot! antes de cada práctica evaluable de los laboratorios, con la finalidad de que los alumnos estudien el material necesario para la práctica antes de cada sesión, siguiendo metodologías de aula invertida. Como elemento de motivación extra, a los tres primeros clasificados de cada práctica se les otorga una puntuación simbólica que se suma a la nota final obtenida en la evaluación de la práctica (1 punto, 0.5 puntos y 0.25 puntos para el primer, segundo y tercer clasificado, respectivamente).

Desde el punto de vista del personal docente, el empleo de cuestionarios tipo Kahoot! permite evaluar los conocimientos de los alumnos, adaptando las explicaciones y posteriores actividades en función de los resultados - *Just in time teaching* - gracias a la recopilación directa de información y en tiempo real.

2.2. Acción tutorial lectiva

Para mejorar la acción tutorial en los laboratorios y reducir la potencial frustración que se genera durante las esperas, se propone el diseño, desarrollo y puesta en uso de un sistema de petición de turnos, "*PideTurno*". Esta herramienta ha de ser simple y auto-administrable, y permitir que los alumnos puedan solicitar turnos de manera on-line y el docente conocer el orden de petición de tutorías y las preguntas que generan más dudas.

En los siguientes subapartados se expone el diseño y desarrollo de la herramienta implementada.

2.2.1 Actores

- Profesores: usuarios que pueden crear sesiones de laboratorio y personalizarlas determinando su nombre y código de acceso, así como poder dar o no una prioridad a las preguntas o que los alumnos puedan ver su posición global respecto al resto. Durante la sesión, pueden ver las preguntas pendientes, pudiendo ordenarlas por tiempo de acceso, prioridad o apartado de la práctica al que se refieren. Además, pueden visualizar los resúmenes de todas sesiones que se hayan llevado a cabo hasta ese momento.
- Alumnos: estos usuarios utilizan la herramienta para solicitar asistencia y plantear las dudas que tienen durante la sesión de laboratorio. Para que un alumno pueda acceder, debe haber sido introducido antes en el sistema por un profesor.

2.2.2 Requisitos del sistema

- Sincronía: basada en llamadas al servidor para el intercambio de información entre usuarios.
- Portabilidad: el sistema puede ejecutarse tanto en dispositivos móviles (Android e iOS) como aplicación o bien como aplicación Web para PC. No se han definido restricciones en cuanto a las capacidades de los dispositivos móviles (versión del sistema operativo, resolución de la pantalla).
- Seguridad y protección de datos: se asegura el control del acceso a la aplicación mediante un administrador y usuarios docentes. El sistema debe preservar la privacidad de todos los usuarios.
- Escalabilidad de servicios: durante la implementación de la aplicación se tiene en cuenta el posible desarrollo futuro.
- Prestaciones. No se han definido restricciones en cuanto a requisitos de capacidad y prestaciones. Una vez evaluado el sistema se considerará la actividad pico de los usuarios, ancho de banda y número

máximo de sesiones soportadas para dar un buen servicio.

- Recursos. No se han impuesto límites en cuanto a recursos de computación y comunicación y almacenamiento del sistema.
- Usabilidad: el uso de la aplicación está concebido para su uso en laboratorios. Se adecúa el diseño de la aplicación a su tiempo de uso estimado.
- Interacción con la interfaz de usuario: el usuario debe tener clara la funcionalidad de la aplicación en poco tiempo, de manera que interaccione con ella de forma intuitiva.
- Conectividad: la aplicación requiere de un acceso a internet para el acceso y uso habitual de la misma.
- Descarga e instalación: la aplicación está disponible en las principales plataformas de descarga de aplicaciones; su instalación es rápida y no requiere esfuerzo adicional del usuario.
- Almacenamiento: la aplicación no requiere base de datos interna, de manera que no suponga un gran volumen de datos en el dispositivo.

2.2.3 Módulos del sistema

En la herramienta "PideTurno" se diferencian los siguientes escenarios de navegación:

- Registro y autenticación. Se lleva a cabo el control de acceso por parte de los diferentes roles de usuarios.
- Página principal. Para el rol profesor la página principal muestra las sesiones que se han realizado hasta el momento. Se permite crear nuevas sesiones o acceder a sesiones ya creadas. Los usuarios de tipo alumno únicamente pueden acceder a sesiones previamente creadas por el profesor.
- Nueva sesión. Se distinguen los siguientes casos:
 - Profesor: al crear una nueva sesión e introducir el nombre deseado el sistema devuelve un código asociado a la misma. Éste será imprescindible para que otro usuario acceda a la sesión.
 - Alumno: para acceder a una sesión activa ha de introducir el nombre y código de la sesión a la que quiere acceder, así como su puesto de laboratorio.
- Sesión activa. Se distinguen los siguientes casos:
 - Profesor: puede visualizar todas las peticiones y preguntas de la sesión y marcarlas como respondidas según las va atendiendo. Además, puede agrupar o visualizar las preguntas en función de algunos parámetros como el tiempo que lleva activa, el nombre de usuario o la prioridad.
 - Alumno: puede llevar a cabo el envío de preguntas y la visualización de todas las preguntas que ha formulado durante la sesión.

Es de destacar que sólo los profesores podrán finalizar una sesión, pero un alumno puede abandonarla y volver a acceder a ella cuando lo desee. Cuando el profesor finalice la sesión se creará un resumen en PDF con las métricas más relevantes adquiridas durante la sesión (preguntas, tiempos de respuesta, tiempos de sesión...).

2.2.4 Interfaces herramienta "PideTurno"

Las Figuras 1 y 2 muestran las principales ventanas de navegación de la aplicación, tanto del profesor como del alumno:



Figura 1.Principales ventanas de navegación del profesor: (arriba izquierda) pantalla de inicio; (arriba derecha) pantalla de sesiones ya realizada; (abajo izquierda) pantalla de creación de sesión; (abajo derecha) pantalla de ordenación de preguntas pendientes



Figura 2. Principales ventanas de navegación del alumno: (izquierda) inicio de sesión de laboratorio; (derecha) preguntas llevadas a cabo durante la sesión, en verde las pendientes y gris las ya resueltas

3. Experiencia piloto

Para evaluar la validez de este planteamiento se está llevando a cabo una experiencia piloto en la Universidad Politécnica de Madrid. Esta prueba de concepto se centra en las siguientes asignaturas y titulaciones:

- Laboratorio de Imágenes Biomédicas Grado en Ingeniería Biomédica
- Laboratorio de Señales Biomédicas Grado en Ingeniería Biomédica
- Laboratorio de Telemedicina Grado en Ingeniería Biomédica
- Medical imaging laboratory Máster Universitario en Ingeniería Biomédica, Master of Technological Innovation in Health
- Telemedicine laboratory Máster Universitario en Ingeniería Biomédica, Master of Technological Innovation in Health

El alumno de estas asignaturas se encuentra en su 4º curso (Grado) o 1º (Máster) donde resulta complicado maximizar el aprovechamiento de clases magistrales clásicas. Al aumentar la motivación del alumno mediante su implicación en su proceso de aprendizaje, se espera mejorar unos resultados de aprendizaje ya de por sí altos. La mayor parte de los contenidos de los laboratorios en los que se centra el proyecto piloto involucran conceptos teóricos vistos durante los años previos pero aplicados a un campo en concreto. No parece lógico pues volver a explicar dichos conceptos con detalle, dejando que sean los alumnos quienes renueven aquellos de especial relevancia y los apliquen luego en los proyectos planteados (con el material de apoyo proporcionado por los profesores en la plataforma docente Moodle de la universidad).

Hasta la fecha se han implementado 10 kahoots, todos durante el curso 2018-2019, con una buena aceptación por parte del alumnado. La valoración subjetiva de los profesores es que el uso de esta herramienta ha hecho aumentar la motivación del alumnado por venir más preparado a las sesiones de laboratorio, disminuyendo las preguntas durante las prácticas relacionadas con aspectos teóricos de las asignaturas.

Por otra parte, la herramienta "*PideTurno*" se está empleando durante el primer semestre de 2019-2020 en 3 asignaturas del grado en ingeniería biomédica. Así, más de 150 alumnos están siendo formados bajo este nuevo paradigma.

Una vez que se finalice el presente curso académico, se llevará a cabo un análisis minucioso de la percepción del uso de esta herramienta tanto por parte del profesorado como del alumnado, recogido por medio de cuestionarios basados en SUS, así como un análisis de las diferentes métricas dadas por la herramienta. Esta información permitirá, por ejemplo, analizar las preguntas en las que los alumnos tienen más dudas, intentando clarificar los enunciados de cara a futuras sesiones. Finalmente, este análisis posibilitará conocer las fortalezas y debilidades de la metodología actual y continuar trabajando en su mejora, para alcanzar el reto final de lograr una formación más motivadora, participativa y eficaz.

A pesar de que este trabajo se centre en laboratorios en grados y máster de ingeniería biomédica, son muchas más las asignaturas que pueden verse beneficiadas por los resultados del presente trabajo. En efecto, todas aquellas asignaturas que contengan prácticas en laboratorio pueden implementar esta nueva metodología empleando la herramienta Kahoot! y la herramienta de gestión de turnos para la resolución de dudas en el aula "*Pide Turno*".

4. Conclusiones

Con el uso de la herramienta de gamificación Kahoot! se cumplen dos requisitos claves en el aprendizaje: el involucramiento de los alumnos en el aprendizaje a partir del juego e incremento de la motivación y la fijación en la memoria de contenidos a través de una experiencia lúdica.

Por otra parte, durante la realización de las prácticas son numerosas las dudas que suelen surgir y que son resueltas por el docente encargado del laboratorio. La gestión efectiva de estas preguntas sin duda repercutirá de manera positiva en la calidad de las mismas, puesto que el docente se puede centrar en las dudas que está resolviendo y no en el orden en que se producen las peticiones de tutorías lectivas (aspecto éste que le da la herramienta de petición de turno). Por otra parte, los alumnos tendrán una mejor percepción de estas tutorías y de que el tiempo de espera hasta que el docente atiende sus dudas está marcado por el orden en que han solicitado dicha atención.

Agradecimientos

Este trabajo está parcialmente financiado por el proyecto de innovación educativa "Herramientas para el incremento de la motivación del alumnado y la eficacia de la docencia en laboratorios" de la Universidad Politécnica de Madrid.

References

- Looyestyn J., Kernot J., Boshoff K, Ryan J., Edney S., Maher C. Does gamification increase engagement with online programs? A systematic review. PLoS ONE 2017. 12(3): e0173403. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173403
- [2] Shindler, J. Examining the Use of Competition in the Classroom. In Transformative Classroom Management. 2009
- [3] Ares AM., Bernal J., Nozal MJ., Sánchez FJ., Bernal, J. (2018). Results of the use of Kahoot! gamification tool in a course of Chemistry. 4th International Conference on Higher Education Advances (HEAd'18) 2018. 1215-1222. 10.4995/HEAD18.2018.8179.
- [4] Olmedilla Fernández M. Improving postgraduate students' learning with the use of gamification Apps: The case of Kahoot!. IX Jornadas de Innovación e Investigación Docente. I International Workshop. Educational Innovation and Research. ACTAS de la Jornada Conjunta. 2018, 41-50.

Usability and Face Validity of the Virtual Soft Skills Game

L.F. Sánchez-Peralta¹, E. Mediero², C. Rubiales², Á. Rubio², G. Casquero³, F.M. Esteban Gómez¹, F.M. Sánchez-Margallo¹, J.B. Pagador²

¹ Bioengineering and Health Technologies Unit, Cáceres, Spain, {lfsanchez, fmesteban, msanchez, jbpagador}@ccmijesususon.com

² Viral Studios, Badajoz, Spain, emediero@viralstudios.es, {crubiales, arfipod}@gmail.com

³InfoGuadiana, Badajoz, Spain, guille@infoguadiana.com

Abstract

Soft skills also influence the surgical environment and it is therefore needed to include their training in surgical programs. Despite their importance, training is still not standardized vet and presents room for improvement and development of training tools. In this regard, virtual reality and serious games allow for a safe training environment outside an actual operating room, providing a feeling of immersion. Virtual Soft Skills Game has been designed and implemented to train soft skills in the surgery. The objective of the current work is to show its usability and face validity. For that, experts in surgical training have tested the game and were asked to rate items in a 5-point Likert scale. Most usability aspects were rated over 4, therefore considered acceptable. Regarding the face validity results, items were rated over 3, although it was possible to identify improvements mainly regarding the auditive immersion. Virtual Soft Skills Game is expected to have a great formative value and future efforts will be placed on further developing more situations and use cases that increase the range of exercises/situations for the player.

1. Introduction

Soft skills or non-technical skills are interpersonal (communication and interaction, teamwork), cognitive (decision-making, situation awareness) and personal resource (leadership) skills that complement technical skills and contribute to safe and efficient task performance [1]. Recent analyses on their influence in the surgical environment have proven their importance: traditional focus only on technical skills is no longer enough for a modern, safe, surgical practice. A good surgeon must be a good "pair of hands" but also a good team player, who interacts well with patients and colleagues. Many adverse events in an Operating Room (OR) occur due to human errors, which better training in soft skills can potentially prevent, resulting in a reduction of patient morbidity and mortality [2]. Current methods for soft skills training are e-courses, e-games or seminars at Continuous Vocational Education and Training (CVET) schools, using best practices, discussions, consultation, model situations or case studies. This training in surgery has not been standardized yet and still presents room for improvement and development of training tools and methods. Thus, CVET of surgical team members in soft skills is still a must.

Virtual Reality (VR) is a disruptive technology with great social impact, which offer visual and audio immersion using a head- mounted display that shows 3D images, so senses are artificially stimulated and deceived to accept another reality. Its applications are huge beyond the entertainment industry [3]. This emerging market has recently proved a powerful educational value, promising in surgical training thanks to immersive virtual environments, where professionals can acquire skills neither compromising patient security, nor requesting the use of an actual OR. VR allows for systematic training: scenarios can be reproduced as many times as necessary without variability in the training situation.

Serious Games (SG) are games with educational goals that provide learners with an innovative, entertaining way of learning; helping them to understand complex problems and train multiple circumstances in several fields. SG also provides safe mechanisms for CVET training. Teachers acknowledge their great educational potential and are willing to use them. Besides, the improvement of the underlying technology increases the use of SG. Surgical training has already benefited from SG, for the acquisition of psychomotor skills, by applying gamification concepts while using regular simulators, or addressing team working. In comparison to expensive simulators or OR cost, SG provide a relatively cheap, safe environment with a wide variety of cases [4]. Furthermore, usability also plays an important role not only during the development process, but also influences the educational value of training devices [5].

Validation of surgical training devices has become a must prior to their actual use in a formal training setting. Different aspects are subject to validation, resulting in the following stages of validation: face validity, content validity, construct validity, concurrent validity, discriminate validity, and predictive validity [6].

Therefore, the objective of this work is to show the usability and the face validity of the Virtual Soft Skills SG (VSS), which has been developed to train soft skills in the field of surgery, using VR devices.

2. Soft skills in surgery

Despite the recent awareness on the importance of soft skills in the surgical practice, there is still no consensus on their categorization, definition and assessment. Sevdalis [7] already in 2013 identified several tools for soft skills assessment where different soft skills were considered, targeting different groups. Taking as basis the different tools already available, eight categories have been defined and the skills considered exposed in Table 1. These soft skills are the target to be trained using VSS. Although they have been defined for surgical training, they are also applicable to other fields as they are transversal skills.

Category	Soft skills		
1 Situation awareness	Attention to details		
	Global awareness		
	Maintain concentration		
	Retain information		
	Anticipation of risks		
2 Diligence	Systematic and comprehensive approach		
	Checking		
	Positive attitude towards rules and		
	procedures		
3 Communication	Listening to people		
	Clarity		
	Assertiveness		
	Sharing information		
4 Decision making and	Effective decisions		
acting	Timely decisions		
	Diagnose and solve problems		
5 Cooperation and	Taking into account the needs of others		
teamwork	Supporting others		
	Treat others with respect		
	Resolve conflicts and/ or aggressive		
	behaviours		
6 Workload management	Multitasking and selective attention		
	Prioritizing		
	Keeping calm under pressure		
7 Self-management	Motivation		
	Trust and initiative		
	Maintain and develop skills and		
	knowledge		
	Prevented and organized		
o	Prepared and organized		
8 Leadership	Team Management		
	Empathy		
	Decision making. Management of team		
	orders		
	How to organize work		
	How to organize the team		
8 Leadership	Maintain and develop skills and knowledge Prevented and organized Prepared and organized Team Management Empathy Decision making. Management of team orders How to organize work How to organize the team Establishing hierarchies		

Table 1. Soft skills in surgical training

3. Virtual Soft Skills Game

Virtual Soft Skills SG (VSS) has been implemented using Unity as Game Engine, with Unity's XR software.

The hardware required to play VSS is a computer with, at least, an i3 processor, 8gb of ram and a graphics card similar or above Nvidia Geforce 1060. For the virtual headset, it requires a HTC Vive VR glasses, HTC Vive PRO or HTC Cosmos.

A hospital, including different spaces such as the hall, waiting room, meeting room and OR, has been modelled (Figure 1). A short tutorial has been also included in the SG to introduce the user on the game mechanics. To interact with VSS, selection panels have been included, allowing for the selection of answers and actions with the remote control (Figure 2).

The player is requested to complete a set of scenes, after which he/she is provided with feedback on his/her performance.

The game logs that information and provides the player with further assistance and feedback on the improvements in his/her actions, so they may be better prepared for those situations.

The game implements simple and intuitive controls using the controllers, so the game is accessible for every user, both familiar and not familiar with VR and technology in general.



Figure 1. VSS areas



Figure 2. Selection panel

4. Methodology

4.1. Participants

Participants were involved in two different stages. Firstly, during the implementation process, two experts in surgical training were involved to test usability of the VR game and different alternatives. For the validation process, five surgeons were recruited, all of them also with wide experience in surgical training. They were asked to play VSS, interacting with the SG (they played a scene in a simulated OR, interacting with other avatars and surgical equipment available) as much as they wished, and to complete a questionnaire after the trial.

4.2. Questionnaires

Two different questionnaires were developed based on already available and validated questionnaires [8-10] but adapted to the particular case of VSS, one for usability and another for face validity. The questionnaires comprised items in a 5-point Likert scale, where 1 stood for the lowest value and 5 for the highest one.



b)

Figure 3. Face validity results -a) perception and b) technical aspects. (5 stands for the maximum value and 1 for the minimum value). Blue line – obtained results; red line – minimum acceptable threshold, set at 3 points.

5. Results

5.1. Usability

Results of usability are shown in Table 2. The usability of the SG in this preliminary version was already considered acceptable, generally obtaining scores higher than 4. The only element with a score lower than 3, and therefore considered negative, is the ease of locating the sound in terms of emission distance. However, as the auditory immersion sensation score was higher than 4, it was considered acceptable.

5.2. **Face Validity**

Figure 3 shows the results obtained in the questionnaire. In the first section (Figure 3.a), related to perception, the lowest score is obtained in the statement "I felt dizzy during the session", so it is positive to get a score lower than 3. Similar to the results obtained in the preliminary evaluation, the aspects related to sound are those that get the lowest scores, although they are always higher than 3 points. As for the technical aspects (Figure 3.b), it is again the sound that gets a lower score (3.2) than the rest, where it should be noted that the feeling of immersion reaches 4.8 points out of 5.

Discussion 6.

Based on the results of the questionnaires and the verbal feedback received from the experts, VSS is considered a tool with great formative value for soft skills in surgery. However, it is necessary to further develop more situations and use cases that increase the range of exercises/situations that the user must face. The consulted experts believe that the inclusion of VR technologies in surgical training will provide great benefits, as it allows the repetition of training in an immersive manner without the need to occupy a real OR, with the cost that this entails.

There are some issues to be faced to improve the quality of the immersion. The case of voice activation can be solved by recording the user's voice when the software asks the user for a response. The microphone would record that voice and use a speech recognition software to transcript the user's response. This response will be checked against a database of possible answers and selected accordingly. This removes the need for the user to use the VR controllers to select an option from a user interface, boosting the feeling of immersion. Other issues, such as artificial intelligence for real-time answers from the non-playable characters and 3D models with higherdetails will be also considered in future versions of VSS to increase its usability, and eventually its formative value.

Item	Score				
Auditive Immersion					
Feeling of immersion		4,25			
Easiness to locate the audio	Right/left	4			
origin	Near/far	2,75			
Helpfuness to locate objects		3			
Visual Imm	ersion				
Feeling of immersion		4,75			
Intuitive		4,25			
Easiness to locate the objects		5			
Preferred setting to play (sitting	standing				
Spatial Imm					
I do not feel dizzy		5			
Easiness to use	5				
Interactivity					
Easiness of the alternative to	Just touch	5			
interact with objects	Touch and grab	5			
	Object transfer	4,5			
Decision m	aking				
Time to choose the option is ad	equate	4,25			
It is adequate to increase difficulty by decreasing time to answer	4				

Table 2. Usability results

Acknowledgments

This work has been partially funded by the Junta de Extremadura (Consejería de Economía e Infraestructuras) and European Regional Development Fund.

References

- Flin R, O'Connor P, Crichton M. Safety at the sharp end: a guide to non-technical skills. Ashgate, Burlington (ISBN 9780754646006)
- [2] Siu J, Maran N, Paterson-Brown S. Observation of behavioural markers of non-technical skills in the OR and their relationship to intra-operative incidents. *Surgeon*, vol 14, sup 3, 2016, pp 119-28 (ISSN: 1479-666X).
- White Paper on Video Game Development in Spain 2017. http://www.dev.org.es/images/stories/docs/libro%20blanco %20dev%202017.pdf (Consulted: August 2019)
- [4] Wang R, DeMaria S Jr, Goldberg A, Katz D. A Systematic Review of SG in Training Health Care Professionals. Simulation in Healthcare: The Journal of the Society for Simulation in Healthcare, vol 11, sup 1, 2016, pp 41-51 (ISSN: 1559-713X)
- [5] Silvennoinen M, Kuparinen L. Usability challenges in surgical simulator training. *Proceedings of the ITI 2009* 31st International Conference on Information Technology Interfaces, Dubrovnik, 2009, pp. 455-460 (ISBN: 978-953-7138-15-8).
- [6] Gallagher AG, Ritter EM, Satava RM. Fundamental principles of validation, and realiability: rigorous science for the assessment of surgical education and training. *Surgical Endoscopy*, vol 17, 2003, pp 1525–29 (ISSN: 1432-2218).
- [7] Sevdalis. Non-technical skills and the future of teamworks in healthcare settings. The Health Foundation. Available at: https://patientsafety.health.org.uk/sites/default/files/resourc es/non_technical_skills_and_the_future_of_teamwork_in_h ealthcare_settings.pdf (Consulted: August 2019)
- [8] Vorderer P, Wirth W, Gouveia FR, Biocca F, Saari T, Jäncke F, Böcking S, Schramm H, Gysbers A, Hartmann T, Klimmt C, Laarni J, Ravaja N, Sacau A, Baumgartner T, Jäncke P. MEC Spatial Presence Questionnaire (MECSPQ): Short Documentation and Instructions for Application. Report to the European Community, Project Presence: MEC (IST-2001-37661). Online. Available from http://www.ijk.hmt-hannover.de/presence (Consulted: August 2019)
- [9] Witmer BG, Singer MJ. (1998). Measuring presence in virtual environments: A presence questionnaire. *Presence: Teleoperators and Virtual Environments*, vol 7, sup 3, 1998, pp 225-240 (ISSN: 1531-3263).
- [10] Witmer BJ, Jerome CJ, Singer MJ. The factor structure of the Presence Questionnaire. *Presence: Teleoperators and Virtual Environments*, vol 14, sup 3, 2005, pp 298-312 (ISSN: 1531-3263).

Relación entre los movimientos oculares sacádicos y la carga cognitiva de los cirujanos durante la visualización de un procedimiento laparoscópico avanzado

JF. Ortega Morán¹, V. Luis del Campo², FM. Sánchez Margallo¹, JB. Pagador¹

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {jfortega,msanchez,jbpagador}@ccmijesususon.com ² Laboratorio de Aprendizaje y Control Motor. Facultad de Ciencias del Deporte, UEX, Cáceres, España, viluca@unex.es

Abstract

Introducción: La carga de trabajo cognitiva de los cirujanos debe controlarse durante una intervención quirúrgica para conseguir una actuación exitosa y segura. Las tecnologías de "eye tracking" se pueden utilizar para monitorizar la carga cognitiva mediante el análisis de los movimientos oculares de los cirujanos. El objetivo de este trabajo es estudiar la relación de un tipo de movimientos oculares, como son los sacádicos, y la carga cognitiva de los cirujanos mientras visualizan un vídeo de un procedimiento laparoscópico avanzado. Métodos: 16 cirujanos (5 expertos, 11 noveles) participaron en el estudio visualizando un vídeo de colectomía que consiste en ocho pasos con títulos introductorios. Se grabó la mirada de los cirujanos con un "eve tracker" para un posterior análisis de los movimientos oculares sacádicos. Resultados: La tasa de sacádicos de los cirujanos aumentaba durante la visualización de los títulos y disminuía durante los pasos. Un paso específico de la intervención produjo la mínima duración y velocidad pico de los sacádicos. Existen diferencias entre expertos y noveles en la duración de los sacádicos, siendo superior en los primeros. Conclusiones: Las tecnologías de "eye tracking" permiten monitorizar la carga de trabajo cognitiva de los cirujanos en procedimientos quirúrgicos mediante el estudio de los movimientos oculares sacádicos. La tasa, duración y velocidad de los sacádicos disminuyen cuando incrementa la carga cognitiva. Dichas métricas se podrían utilizar para etiquetar objetivamente las tareas difíciles de un procedimiento quirúrgico. La duración de los sacádicos se podría utilizar para distinguir el nivel de experiencia de los cirujanos.

1. Introducción

El "*eye tracking*" o seguimiento ocular es una herramienta para la evaluación objetiva de estrategias de búsqueda visual en diferentes dominios profesionales (e.g., música, deporte, entornos militares, rehabilitación clínica y cirugía). Esta tecnología permite registrar los movimientos oculares y el punto de fijación de la mirada [1]. Por ejemplo, la mirada se ha utilizado en diferentes tareas para abordar la observación de la acción, la ejecución de la acción y las imágenes de movimiento [2]. Los "eye trackers" o rastreadores oculares, junto con software específico de análisis de los movimientos oculares, han sido el material más utilizado para analizar comportamientos visuales porque proporcionan información específica sobre la dirección de la mirada, la dilatación de la pupila y también sobre pruebas de los procesos mentales [3].

Algunos estudios han evaluado las diferencias en las métricas oculares entre cirujanos expertos y noveles en cirugía abierta [4], o en operaciones básicas de cirugía mínimamente invasiva [5]. En esta línea, la investigación ha concluido que los cirujanos expertos mostraron más fijaciones en Áreas de interés (AOI) clave durante las 407

intervenciones básicas [6]. Específicamente, un tema de interés para la investigación ha sido el "quiet eve" u ojo tranquilo (QE), que es la última fijación visual prolongada a un estímulo visual de interés. Este parámetro está relacionado con la coordinación perceptivo-motora, y parece ser otra variable discriminatoria del nivel de habilidad en cirugía. Por ejemplo, los cirujanos expertos mostraron un QE más largo durante la identificación y disección del nervio laríngeo recurrente [7]. Recientemente, un estudio ha descrito los patrones visuales de cirujanos expertos y noveles durante la percepción de un procedimiento laparoscópico avanzado (es decir, viendo un video de una colectomía). Los resultados de este estudio mostraron que: 1) los expertos tenían más fijaciones y tiempos de fijación más largos que los noveles; 2) los cirujanos expertos enfocaron sus fijaciones en el objetivo de cada paso de la operación, evitando mirar hacia otros puntos; y 3) los cirujanos noveles tenían un patrón de mirada más disperso [8].

La dilatación de la pupila y la tasa de parpadeo también son dos métricas oculares utilizadas para analizar la carga de trabajo cognitiva. Parece ser que estas variables están relacionadas con el desarrollo cognitivo y la plasticidad. Por ejemplo, en un contexto educativo, se determinó que la dilatación de la pupila está relacionada con la excitación y la atención, pero también con la dificultad de la tarea y el esfuerzo mental. En cambio, los parpadeos estarían relacionados con procesos subyacentes a la conducta dirigida hacia el objetivo [9]. Es importante tener en cuenta la carga de trabajo cognitiva de los cirujanos porque tiene numerosas implicaciones para una cirugía segura. Por ejemplo, los cirujanos sobrecargados pueden tener dificultades para mantener un rendimiento estable en el quirófano, o el cirujano puede perder la atención sobre ciertas señales que pueden ponen en peligro la vida del paciente durante la cirugía [10]. Estudios previos han indicado que la respuesta pupilar es muy sensible al cambio de las cargas de trabajo y que el tamaño de la pupila aumenta con la dificultad en las tareas quirúrgicas secuenciales [10], y también que la reducción de la frecuencia de parpadeo y la duración más corta de dicho parpadeo coinciden con el nivel creciente de carga de trabajo mental de los cirujanos [11]. Por lo tanto, las mediciones del tamaño de la pupila y los parpadeos pueden usarse para monitorizar la carga de trabajo mental de un cirujano. Se han realizado estudios para medir la carga de trabajo cognitiva de expertos y noveles en tareas quirúrgicas avanzadas a través del uso de simuladores [12], pero no en procedimientos quirúrgicos en vivo o videoproyectados. Por ello, recientemente se ha realizado un

ISBN 978-84-09-16707-4 Actas del XXXVII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica, pages 407–410 Santander, España, 27 al 29 de noviembre, 2019 estudio [13] para analizar la carga de trabajo cognitiva de los cirujanos de diferente experiencia visualizando un vídeo de colectomía laparoscópica, que es un procedimiento laparoscópico avanzado, basado en las métricas de seguimiento de la mirada relacionadas con la respuesta pupilar y la tasa de parpadeos. Este estudio demuestra que un mayor tamaño de la pupila y una menor frecuencia de parpadeo suponen una mayor carga de trabajo cognitiva [9].

Existe una reciente alternativa a las métricas anteriormente descritas para medir la carga cognitiva, que son los movimientos oculares sacádicos. Son movimientos rápidos del ojo que ocurren entre dos fijaciones, y pueden ser utilizados de forma fiable para estimar la carga cognitiva de trabajo puesto que se ven menos afectados por las variaciones de intensidad de luz que la respuesta pupilar y los parpadeos del ojo [14]. Sin embargo, en el estado actual de conocimientos existe cierta controversia en la relación entre movimientos oculares sacádicos y carga cognitiva. Por ejemplo, algunos estudios dicen que si aumenta la carga cognitiva disminuye el número de sacádicos [15], mientras que otros indican lo contrario [16]. Por otro lado, ciertos estudios dicen que si aumenta la carga cognitiva disminuye la velocidad de los sacádicos [17,18], mientras que otros dicen que aumenta [14]. En cuanto a la duración de sacádicos, los estudios dicen que si aumenta la carga cognitiva disminuye la duración de los sacádicos [16,17].

En este trabajo, el objetivo es estudiar la relación de los movimientos oculares sacádicos y la carga cognitiva de los cirujanos mientras visualizan un vídeo de un procedimiento laparoscópico avanzado, como es la colectomía.

2. Métodos

16 cirujanos participaron voluntariamente en el estudio, de los cuales 5 podrían considerarse cirujanos expertos (asistieron a más de 50 intervenciones laparoscópicas de colectomía) y 11 como noveles (sin experiencia en laparoscopia). Se realizó el mismo procedimiento experimental con todos los cirujanos para llevar a cabo las pruebas: 1) se informó al participante sobre los objetivos del estudio, siguiendo un método de simple ciego para evitar sesgos en los resultados; 2) el participante estaba sentado frente a un ordenador portátil (Figura 1) dentro de una habitación tranquila sin ruido y con poca luz; 3) se realizó una calibración de 3 puntos al participante con las gafas de seguimiento ocular SMI 2w (SensoMotoric Instruments, SMI); 4) el video de colectomía se mostró a los cirujanos mientras se grababa su mirada con el "eye tracker".



Figura 1. Un cirujano realizando el estudio

El video didáctico consistió en una intervención de colectomía laparoscópica dividida en ocho pasos, con un título breve y una ilustración médica que resume cada paso (Figura 2):

- Paso 1 Exposición del campo quirúrgico, apertura del mesenterio y disección de la arteria mesentérica inferior.
- Paso 2 Identificación del uréter izquierdo.
- Paso 3 Oclusión de la arteria mesentérica inferior.
- Paso 4 Liberación del mesorrecto.
- Paso 5 Liberación superior del segmento cólico proximal (equivalente al ángulo esplénico).
- Paso 6 Sección cólica distal.
- Paso 7 Resección de la pieza y disposición del yunque en el segmento proximal.
- Paso 8 Anastomosis circular término-terminal.

Paso 2: Identificación del uréter izquierdo



Figura 2. Título e ilustración resumiendo el paso 2

Posteriormente, se analizaron las grabaciones con el software BeGaze SMI (SensoMoToric Instruments, SMI) y se extrajeron diferentes métricas relacionadas con el comportamiento de la mirada de los cirujanos, como son la duración, la tasa y la velocidad promedio, y la velocidad de pico, de los movimientos oculares sacádicos de los cirujanos. El análisis estadístico de los resultados se realizó con el software R para computación estadística para Windows (https://www.r-project.org/). Se realizó un análisis mediante la prueba de Shapiro-Wilk para estudiar la distribución de la normalidad de los resultados entre cirujanos expertos y noveles. En consecuencia, se realizó la prueba paramétrica t-Student para analizar las diferencias significativas entre los expertos y los noveles en aquellas variables con una distribución normal de datos, y la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para distribuciones no normales (p<0.05 como significación estadística).

3. Resultados

1.1. Resultados de todos los participantes

Tras aplicar una corrección del desplazamiento de la mirada en los registros que lo necesitaban, los resultados correspondientes a la tasa promedio de sacádicos de los participantes durante la visualización del video se muestran 408 en la figura 3.



Figura 3. Tasa promedio de sacádicos

La figura 3 muestra que la tasa promedio de sacádicos de los cirujanos aumenta durante la visualización de los títulos previos a cada paso y disminuye durante la visualización de los pasos.

Si nos centramos en la visualización de los pasos, tanto la duración promedio como la velocidad pico promedio de los sacádicos alcanzan su mínimo valor durante el paso 2 (75.65 ± 2.97 ms, $112.15\pm44.51^{\circ}$ /min, respectivamente) y su máximo valor durante el paso 6 (77.84 ± 3.76 ms, $172.10\pm100.25^{\circ}$ /min, respectivamente). En cuanto a la visualización de los títulos, los valores promedio de duración, velocidad y velocidad pico alcanzan su valor máximo durante el título del paso 5 (77.00 ± 5.62 ms, $65.13\pm21.07^{\circ}$ /min, $179.77\pm80.70^{\circ}$ /min, respectivamente).

1.2. Comparación entre cirujanos expertos y noveles

El análisis estadístico de las variables con distribución no normal (velocidad de sacádicos del título 1, paso 1, título 3; velocidad pico de sacádicos del título 3, título 5, paso 5, paso 6; tasa de sacádicos del título 6) y normal (el resto) que compara los niveles de experiencia muestra que los cirujanos expertos y noveles presentan métricas muy similares, excepto en casos puntuales (Figura 4).



Figura 4. Velocidad promedio de sacádicos (Expertos vs Noveles)

Únicamente se pueden encontrar diferencias entre ambos grupos en la duración promedio de los sacádicos, donde los valores de los expertos son en la mayoría de los casos superiores a los valores de los noveles (Figura 5). De hecho, de todas las métricas evaluadas, solamente hay diferencias significativas entre ambos grupos en la duración promedio de los sacádicos durante la visualización del título 3 (77.01 \pm 2.77ms, 72.38 \pm 4.78ms, expertos y noveles, respectivamente; p=0.030) y del título 6 (78.00 \pm 4.03ms, 72.78 \pm 4.08ms, expertos y noveles, respectivamente; p=0.044).



Figura 5. Duración promedio de sacádicos (Expertos vs Noveles)

4. Conclusiones y trabajos futuros

El objetivo del estudio era abordar diferentes métricas oculares asociadas con los movimientos oculares sacádicos y relacionarlas con la carga de trabajo cognitiva en cirujanos con diferente experiencia durante la videoproyección de un procedimiento laparoscópico avanzado. Para realizar la discusión de los resultados de este estudio nos vamos a basar en las conclusiones obtenidas en un estudio previo que relaciona la carga de trabajo cognitiva con el tamaño de la pupila y la frecuencia de parpadeos [13], visualizando el mismo vídeo quirúrgico del presente trabajo. Según dicho estudio, los cirujanos presentaban mayor carga cognitiva (mayor tamaño de pupila y menor frecuencia de parpadeos) durante la visualización de los pasos de la intervención y menor carga cognitiva durante los títulos. Sin embargo, en el presente estudio, la tasa promedio de sacádicos de los participantes es mayor durante la visualización de los títulos y disminuye durante los pasos de la intervención quirúrgica. Esto se puede deber a que la lectura de los títulos requiere un mayor número de sacádicos en busca de la información visual relevante. En cambio, durante los pasos, los cirujanos se centran en el objetivo de la tarea sin necesidad de buscar otras fuentes de información [19]. Por lo tanto, nuestro estudio proporciona evidencia científica de que la tasa de sacádicos disminuye cuando se incrementa la carga cognitiva, y viceversa, corroborando los resultados de estudios previos [15].

Por otro lado, es factible pensar que la información proporcionada por las métricas de seguimiento ocular se podría utilizar para etiquetar objetivamente las tareas o pasos dentro de un procedimiento quirúrgico. En este sentido, y concretamente en el caso del procedimiento laparoscópico avanzado de colectomía, en el estudio de referencia [13] se demostraba que el paso 2 (identificación del uréter izquierdo) causaba el tamaño de pupila más alto, y por lo tanto, la mayor carga cognitiva, mientras que la visualización del título del paso 5 (liberación superior del segmento cólico proximal) causaba el tamaño de pupila más bajo, o lo que es lo mismo, la menor carga cognitiva. En el presente estudio se ha obtenido que precisamente durante la visualización del paso 2, tanto la duración promedio como la velocidad pico promedio de los 409 movimiento oculares sacádicos de los participantes alcanzan su mínimo valor. Y por el contrario, durante la visualización del título del paso 5, los valores promedio de duración, velocidad y velocidad pico de los sacádicos alcanzan su valor máximo. Según estos resultados, el presente estudio sugiere que la duración y la velocidad de los sacádicos disminuye cuando la carga de trabajo cognitiva aumenta, y viceversa, corroborando los resultados de estudios previos [16,17]. Además, las métricas de seguimiento ocular relativas a la duración y velocidad de los movimientos sacádicos podrían ser útiles para determinar qué pasos de un procedimiento quirúrgico implica un mayor esfuerzo cognitivo en los cirujanos, siendo éstos los que den lugar a una menor duración y velocidad de sacádicos, que en el presente estudio sería el paso 2 del procedimiento de colectomía. Estos resultados podrían ayudar a diseñadores y desarrolladores de cursos de formación de dichas intervenciones quirúrgicas a balancear los recursos materiales y humanos utilizados para enseñar cada paso de la intervención, dando prioridad a los pasos más difíciles empleando más recursos en ellos, para que puedan ser más fáciles de aprender para los cirujanos, haciéndolos más atractivos y no tediosos en su aprendizaje.

Finalmente, los resultados sugieren que las tecnologías de seguimiento ocular se podrían utilizar para distinguir el nivel de experiencia de los cirujanos basándose en la duración de los movimientos oculares sacádicos. En este estudio se ha determinado que los cirujanos noveles presentan una mayor duración de sacádicos que los cirujanos expertos en la mayoría de los casos. Sin embargo, debido a que no sucedía en todos los casos, y que las diferencias entre ambos grupos no eran muy grandes, esto se debería analizar más en profundidad en futuros trabajos.

Este estudio muestra que las tecnologías de *"eye tracking"* permiten comprobar la carga de trabajo cognitiva de los cirujanos en procedimientos quirúrgicos a través de los movimientos oculares sacádicos. De acuerdo con estudios previos [15-18], si incrementa la carga cognitiva, disminuye la tasa, duración y velocidad de los sacádicos, y viceversa.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a todos los cirujanos que participaron voluntariamente en el estudio.

Referencias

- [1] Edmondson MJ, Pucher PH, Sriskandarajah K, Hoare J, Teare J, Yang GZ, ..., Sodergren MH. Looking towards objective quality evaluation in colonoscopy: Analysis of visual gaze patterns. *Journal of gastroenterology and hepatology*, vol 31, sup 3, 2016, pp 604-609.
- [2] Causer J, McCormick SA, Holmes PS. Congruency of gaze metrics in action, imagery and action observation. *Frontiers in Human Neuroscience*, vol 7, 2013, pp 604.
- [3] Liu HC, Chuang HH. An examination of cognitive processing of multimedia information based on viewers' eye movements. *Interactive Learning Environments*, vol 19, sup 5, 2011, pp 503-517.
- [4] Tien T, Pucher PH, Sodergren MH, Sriskandarajah K, Yang GZ, Darzi A. Differences in gaze behaviour of expert and junior surgeons performing open inguinal hernia repair. *Surgical endoscopy*, vol 29, sup 2, 2015, pp 405-413.
- [5] Wilson MR, McGrath JS, Vine SJ, Brewer J, Defriend D, Masters RS. Perceptual impairment and psychomotor control

in virtual laparoscopic surgery. Surgical endoscopy, vol 25, sup 7, 2011, pp 2268-2274.

- [6] Khan RS, Tien G, Atkins MS, Zheng B, Panton ON, Meneghetti AT. Analysis of eye gaze: Do novice surgeons look at the same location as expert surgeons during a laparoscopic operation?. *Surgical endoscopy*, vol 26, sup 12, 2012, pp 3536-3540.
- [7] Harvey A, Vickers JN, Snelgrove R, Scott MF, Morrison S. Expert surgeon's quiet eye and slowing down: expertise differences in performance and quiet eye duration during identification and dissection of the recurrent laryngeal nerve. *The American Journal of Surgery*, vol 207, sup 2, 2014, pp 187-193.
- [8] Ortega Morán JF, Toribio Silva A, Pagador JB, Sánchez González P, Gómez EJ, Sánchez Margallo FM. Eye gaze behaviour watching an advanced laparoscopic procedure: experts versus novices comparison. *International Journal for Computer Assisted Radiology and Surgery (IJCARS)*, vol 12, sup 1, 2017, pp 133-135.
- [9] Eckstein MK, Guerra-carrillo B, Singley ATM, Bunge SA. Beyond eye gaze: what else can eyetracking reveal about cognition and cognitive development?. *Developmental Cognitive Neuroscience*, vol 25, 2016, pp 69-91.
- [10] Zheng B, Jiang X, Atkins MS. Detection of changes in surgical difficulty: evidence from pupil responses. *Surgical innovation*, vol 22, sup 6, 2015, pp 629-635.
- [11] Zheng B, Jiang X, Tien G, Meneghetti A, Panton ONM, Atkins MS. Workload assessment of surgeons: correlation between NASA TLX and blinks. *Surgical endoscopy*, vol 26, sup 10, 2012, pp 2746-2750.
- [12] Zheng B, Cassera MA, Martinec DV, Spaun GO, Swanström LL. Measuring men-tal workload during the performance of advanced laparoscopic tasks. *Surgical endoscopy*, vol 24, sup 1, 2010, pp 45.
- [13] Ortega Morán JF, Pagador JB, Luis del Campo V, Gómez Blanco JC, Sánchez Margallo FM. Using eye tracking to analyze surgeons' cognitive workload during an advanced laparoscopic procedure. 15th Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing (MEDICON 2019), Coimbra (Portugal), 2019.
- [14] Bodala IP, Ke Y, Mir H, Thakor NV, Al-Nashash H. Cognitive workload estimation due to vague visual stimuli using saccadic eye movements. In 2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2014, pp 2993-2996.
- [15] Porta M, Ricotti S, Perez CJ. Emotional e-learning through eye tracking. In Proceedings of the 2012 IEEE Global Engineering Education Conference (EDUCON), 2012, pp 1-6.
- [16] Ahlstrom U, Friedman-Berg FJ. Using eye movement activity as a correlate of cognitive workload. *International Journal of Industrial Ergonomics*, vol 36, sup 7, 2006, pp 623-636.
- [17] Di Stasi LL, Marchitto M, Antolí A, Baccino T, Cañas JJ. Approximation of on-line mental workload index in ATC simulated multitasks. *Journal of Air Transport Management*, vol 16, sup 6, 2010, pp 330-333.
- [18] Tsai YF, Viirre E, Strychacz C, Chase B, Jung TP. Task performance and eye activity: predicting behavior relating to cognitive workload. *Aviation, space, and environmental medicine*, vol 78, sup 5, 2007, pp B176-B185.
- [19] Vlaskamp BNS, Over EAB, Hooge ITC. Saccadic search performance: The effect of element spacing. *Experimental Brain Research*. vol 167, 2005, pp 246-259.

Clasificación de Tejido Tumoral y no Tumoral en Imágenes Multiespectrales de Biopsias de Mama

G. Bueno¹, J. Cordoba¹, N. Vallez¹, L. Gonzalez²

¹ VISILAB, Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real, España,

² Departamento de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real, España

{gloria.bueno, javier.cordoba, noelia.vallez}@uclm.es

Resumen

Este trabajo presenta un estudio de clasificación de tejidos y células tumorales y no tumorales en muestras de biopsias de mama. Para ello se utilizan técnicas de aprendizaje profundo e imágenes multiespectrales, adquiridas con diferentes longitudes de onda, desde 425nm hasta 700nm y paso espectral de 4nm. Las muestras de biopsias no fueron teñidas con ningún biomarcador. El resultado es un clasificador basado en Redes Neuronales Convolucionales (CNN) con una precisión de 88.4% y AUC de 0.93 para las discriminar entre muestras benignas y malignas.

1. Introducción

El diagnóstico mediante una biopsia consiste en extraer una parte del tejido de la zona a estudiar para que sea posteriormente observada y estudiada por un médico patólogo [1]. Este trabajo es muy agotador debido a que se deben observar detalles muy pequeños durante una jornada de trabajo entera, esto hace que la precisión de los diagnósticos disminuya.

Para que estas biopsias puedan ser observadas a través de un microscopio se tiñen con un biomarcador para destacar estructuras celulares o tumorales [1]. Hay que destacar que estas tinciones son muy caras y por tanto suponen un gran coste para los hospitales.

En la última década se han realizado múltiples avances en la detección automática de tumores usando diferentes métodos como los mapas auto organizados, árboles de decisión, SVM o Redes Neuronales. El principal inconveniente de estos métodos es que dependen de las características extraídas previamente. Últimamente, nuevos métodos y técnicas están siendo usadas tales como las CNN [2, 3] que han permitido mejorar aún más los resultados obtenidos.

El principal componente de las CNN son las *convoluciones* o *núcleos*. Estos núcleos son pequeñas matrices que se aplican a una imagen y que permiten aplicarle distintos filtros como desenfoque, detección de bordes o enfoque. El proceso de aplicar un núcleo a una imagen se llama *convolución*.

La principal ventaja de las CNN respecto a otros métodos los cuales usan características extraídas manualmente es su capacidad de optimizar los núcleos que componen las diferentes capas de la arquitectura de la red mientras esta está siendo entrenada, eliminando la necesidad de extraer las características manualmente y aumentando el número de características exploradas.

Estas redes también incluyen capas específicas para controlar el sobreajuste (o *overfitting*) mediante las capas *pooling* que son insertadas entre capas convoluciones consecutivas.

La aplicación principal de las CNN para análisis de biopsias se centra principalmente en la clasificación de la biopsia en zonas tumorales y no tumorales [4–6]. Otra aplicación es la clasificación de las biopsias en todos los tejidos presentes en ella [7] ya que los patólogos no sólo usan la cantidad y posición del tumor para guiar sus diagnósticos.

Aunque la mayoría de las arquitecturas CNN sólo aceptan imágenes en color (Red-Green-Blue), recientes estudios han empezado a investigar las implicaciones que tienen imágenes que contienen información de otras longitudes de onda dentro del espectro electromagnético, estas imágenes se denominan multiespectrales.

Estudios recientes han sugerido que las imágenes multiespectrales podrían igualar o mejorar los resultados obtenidos con las imágenes RGB [8, 9] en aplicaciones biomédicas, concretamente en el análisis de biopsias.

Es por esto por lo que este trabajo se centrará en el desarrollo de un sistema de clasificación automática de biopsias en diferentes tipos de tejidos y células usando imágenes multi-espectrales y biopsias sin teñir, para intentar reducir el coste repercutido a los hospitales y aumentar la precisión del sistema. Los resultados son comparados a la clasificación de tejido de las mismas imágenes teñidas con hematoxilina-eosina (HE).

El trabajo está estructurado de la siguiente forma, la Sección 2 describe los materiales y datos usados. La Sección 3 expone los métodos y la Sección 4 los resultados más relevantes obtenidos en este trabajo y discusión de los mismos. Por último, la Sección 5 extrae algunas conclusiones de los resultados obtenidos.

2. Materiales

Las biopsias usadas en este trabajo se obtuvieron a través del Hospital General Universitario de Ciudad Real, donde se preparó y digitalizó el porta completo de un total de 16 pares de muestras de biopsia de mama teñidas (Hematoxilina-Eosina) y no teñidas de las cuales la mitad son malignas y la otra mitad benignas. La Figura 1 muestra una captura completa de la imagen WSI (*whole slide image*), de muestra maligna teñida. Cada una de las WSI se subdividió para generar entradas adecuadas a la CNN, obteniendo un total de 14.890 imágenes de 128x128 píxeles.

Las muestras no teñidas fueron posteriormente capturadas en nuestro laboratorio con un microscopio hiperespectral IMA VIS fabricado por Photon etc. El microscopio está equipado con tres objetivos de 10x, 20x y 40x, una platina motorizada en los ejes X, Y y Z y un filtro espectral programable con resolución de 1 nm y con un rango de 400--700 nm.

Las muestras fueron etiquetadas con la ayuda de un patólogo, quien ilustró las diferencias visuales y contextuales entre los diferentes tipos de tejidos presentes en una biopsia de mama. Con el apoyo de las muestras teñidas, se fueron extrayendo imágenes que únicamente contenían un tipo de tejido de cada una de las muestras teñidas.

Una vez correlacionada se fueron marcando zonas a capturar con el objetivo 20x, rango espectral 425--700 nm y paso espectral de 4 nm, se debe tener en cuenta que el rango elegido es menor que el rango completo del microscopio ya que en longitudes de onda bajas aparecía un halo en la parte izquierda de la imagen. Las muestras no teñidas se etiquetaron en 7 clases: tumor, estroma, estroma tumoral, celularidad no tumoral (epitelio + linfocitos), sangre, tejido adiposo y otros. La Figura 2 muestra la distribución de imágenes en ambas bases de datos.



Figura 1: Ejemplo de muestra maligna teñida



Figura 2.a: Distribución de tejidos en la base de datos teñida con HE



Figura 2.b: Distribución de tejidos en la base de datos no teñida

3. Métodos

La mayoría de CNN orientadas а imágenes multiespectrales también clasifican la imagen de entrada en clases, estas están dirigidas a aplicaciones de segmentación semántica y por lo tanto sus tamaños de entrada son muy pequeños, del orden de 7x7 o 9x9 píxeles. La decisión que se tomó fue usar una arquitectura de entrenamiento rápido en la base de datos teñida y añadir una serie de capas al inicio de ella para convertir la imagen multiespectral, que se puede entender como un cubo de píxeles, a una imagen sintética RGB de tres canales. Por lo tanto, lo que se estaría realizando es una reducción de dimensionalidad.

La arquitectura elegida fue GoogleNet [2], las capas que se añadieron fueron convoluciones 2D agrupadas, estas convoluciones agrupan los canales de la imagen de entrada para posteriormente aplicar una serie de filtros a cada grupo y finalmente concatenarlos, las capas añadidas están descritas en la Tabla 1, a esta arquitectura la hemos denominado *Multispectral GoogleNet*. Aunque el número de filtros por grupo y el número de grupos está ajustado para el número de canales presentes en las imágenes capturadas sería muy sencillo modificarla para que aceptase otras imágenes multiespectrales con diferente número de canales.

Ambas bases de datos se dividieron en tres subconjuntos con el objetivo de obtener una evaluación objetiva de los resultados de las CNN, la división de estos conjuntos se realizó de la siguiente forma: 70.05% entrenamiento, 13.95% validación y 7% test.

Después de realizar múltiples rondas de entrenamiento los hiperparámetros que obtuvieron mejores resultados en el subconjunto de validación para GoogleNet fueron:

- 6 épocas
- Learning rate constante de 0.0003
- Batch size 30

Mientras que para Hyperspectral GoogleNet fueron:

- 20 épocas
- Learning rate programado
 - Primeras 13 épocas \rightarrow 0.003
 - Últimas 7 épocas \rightarrow 0.0003
- Batch size 35

4. Resultados y discusión

Multispectral GoogleNet obtuvo un 88.4% de precisión y un área bajo la curva media de 0.934 como se muestra en las Figuras 3 y 4. Hay que hacer notar que el conjunto de datos de *otros* era muy pequeño y por eso sale no evaluado en la tabla de confusión.

Estos resultados fueron comparados con los resultados de GoogleNet con la base de datos teñida, obteniéndose un 98.5% de precisión y un área media bajo la curva media de 0.997, según muestra la Figura 5 [10].

El resultado de la base de datos teñida es muy bueno, sin embargo, al estar la base de datos desbalanceada puede haber sesgado las métricas debido a que las clases con muy pocas imágenes (Epitelio tumoral y Sangre) han tenido un 100% de precisión.







Figura 4: Curva ROC de Multispectral GoogleNet con la base de datos no teñida



Figura 5: Curva ROC de GoogleNet con la base de datos teñida de HE

Una posible aplicación es la realización de un cribado previo al diagnóstico en el cual se descarten muestras claramente malignas o sin tejido relevante ya que la red distingue los tejidos malignos de los benignos perfectamente. Así como descartar muestras claramente benignas o que no contuviesen tejido relevante como grasa o sangre.

Una posible causa de los resultados de la red aplicada a imagen multiespectral es la calidad de las imágenes, como se muestra en la Figura 6 el lado derecho de cada imagen está ligeramente desenfocado, por lo que, cuando se genera el mosaico, se genera un cambio de enfoque que podría confundir a la red. La imagen de la Figura 6 corresponde a una longitud de onda de 425 nm, contraste añadido para una mejor visualización.



Figura 6: Desenfoque de imagen multiespectral 425nm

Otra limitación del estudio, es que algunos tipos de tumores muy raros pueden pasar desapercibidos para las CNN debido al pequeño conjunto de muestras disponibles

5. Conclusiones

La detección automatizada de tumores y posterior diagnóstico es un problema muy difícil de afrontar ya que una detección muy precisa es necesaria para reducir el número de falsos negativos del sistema.

Este es uno de los primeros trabajos en aplicar imágenes multiespectrales a la detección de tejidos en biopsias de cáncer de mama junto a la aplicación de una nueva arquitectura CNN que usa las capas convolucionales 2D agrupadas.

El principal hallazgo de este trabajo ha sido que las imágenes multiespectrales contienen la información

suficiente para detectar los diferentes tipos de tejidos presentes en una muestra de biopsia de mama, esta información puede ser procesada por una CNN que es capaz de aprovechar cada una de las longitudes de onda de la imagen para analizarla y clasificarla.

Aunque los resultados obtenidos con las imágenes prometedores multiespectrales son no son 10 suficientemente precisos. Futuros trabajos podrían consistir en aumentar el número de muestras para equilibrar la base de datos, mejorar la calidad de las multiespectrales, desarrollar imágenes nuevas arquitecturas CNN para aprovechar mejor la información contenida en las imágenes multiespectrales.

Nombre de la capa	Tamaño de los filtros	Número de filtros por grupo	Número de grupos	Padding	Tamaño de salida
data	—	_	—		224x224x69
dwconv1	9x9	10	3	3x3	224x224x30
dwconv2	7x7	5	2	2x2	224x224x10
dwconv3	5x5	3	1	2x2	224x244x3

Tabla 1: Arquitectura GoogleNet Multiespectral

Referencias

- Ross, Michael H.,, and Wojciech Pawlina. Histology: A Text and Atlas : With Correlated Cell and Molecular Biology. Seventh edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, 2016, 2-3.
- [2] C. Szegedy et al. "Going deeper with convolutions". In: 2015 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR). 2015, pp. 1–9.
- [3] Gao Huang et al. "Densely Connected Convolutional Networks". In: The IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR). July 2017.
- [4] Yun Liu et al. "Artificial Intelligence–Based Breast Cancer Nodal Metastasis Detection". In: Archives of Pathology & Laboratory Medicine.
- [5] Dayong Wang et al. "Deep Learning for Identifying Metastatic Breast Cancer". In: arXiv e-prints (June 2016).
- [6] Angel Cruz-Roa et al. "Automatic detection of invasive ductal carcinoma in whole slide images with convolutional neural networks". In: SPIE Medical Imaging. Vol. 9041. Mar. 2014, pp. 904103-904103–15.
- [7] J. N. Kather et al. "Deep learning can predict microsatellite instability directly from histology in gastrointestinal

cancer". In: Nature Medicine 25.7 (July 2019), pp. 1054–1056.

- [8] Ruqayya Awan, Somaya Al-Maadeed, and Rafif Al-Saady. "Using spectral imaging for the analysis of abnormalities for colorectal cancer: When is it helpful?" In: PLOS ONE 13.6 (June 2018), pp. 1–21.
- [9] Ahmad Chaddad et al. "Multi Texture Analysis of Colorectal Cancer Continuum Using Multispectral Imagery". In: PLOS ONE 11.2 (Feb. 2016), pp. 1–17.
- [10] J. Córdoba, Deep . learning for automatic classification of tissue types in breast biopsies, XL JA, 2019

Validation and reliability of a new Hand-Held Dynamometer developed by DyCare

A. Modrego¹, R. Marginet^{1,2}, R. Jauregui¹, S. Balocco²

¹ DyCare, Barcelona, Spain, {adriana.modrego@dycare.com}

² University of Barcelona, Barcelona, Spain, {roger.marginet@gmail.com}

Abstract

The purpose of this study was to validate a new hand-held dynamometer (HHD) developed by Dycare. Therefore, two main tests were carried out. The first one aimed to analyse the measurement error of the device and how well the calibration hold when using known weights ranging from 1-12kg. The second test had as objective evaluate the repeatability and reproducibility of the device. To do so, two different operators performed knee flexion and extension dynamometry tests on 6 volunteers using both the prototype of DyCare and a Lafayette hand-held dynamometer. The results showed that DyCare device have the same measurement error as the Lafayette one, around 0.2 kg, and that it offers a repeatability and reproducibility of the same order than a homologated dynamometer. During the test, it was realised that it could be interesting to reduce or eliminate the measurement error introduced by the operator, which represents an important percentage of the whole error, particularly when the subject presents a greater muscular strength than the operator.

Keywords: DyCare, Lafayette, Dynamometer, hand-held dynamometer (HHD), validation method, joint balance, functional assessment.

1. Introduction

Assessment of muscle strength is one of the important predictive factors, not only of neurological diseases or musculoskeletal disorders, but also of the physical function of elderly people. In particular, the lower extremity muscle strength is known as an important indicator of gait and physical functions of the elderly population [1].

Nowadays, isokinetic testing (IT) is considered as the gold standard to measure muscle strength, due to its reliability and objective measurements, but it requires a long measurement time as well as a trained operator (OP). Furthermore, it is bulky and hence, it requires a dedicated room. Nowadays, its use is restrained to research applications.

On the other hand, in clinical environments beside research, muscle strength is typically measured via manual muscle testing (MMT). MMT consists of countering the force created by a patient against the empty hand of the OP and to assess the state of the joint qualitatively. With such a technique, the patient voluntarily contracts the muscle against manual resistance [2].

MMT allows a quick measurement, the output is easily understood and intuitive, and the measurements are possible even in patients having musculoskeletal disorders. However, without the use of this equipment, the clinical evaluation depends on the subjectivity of the OP, leading to a difficult quantitative evaluation when of inhomogeneous subjects (differing in age, sex, physical fitness conditions), are evaluated [3]. For instance, Beasley et al. illustrated that differences in strength ranging from 20% to 25% cannot be distinguished by MMT, and the procedure fails to identify weakness in knee extensor muscles having a 50% loss in strength [4].

Hand-held dynamometers were invented to improve the assessment of MMT. HHDs are placed between the patient articulation to measure and the hand of the OP, thus allowing a measurement procedure similar to MMTs. HHDs are small devices that can quantify muscle strength while preserving the efficiency and adaptability of MMT, thus providing objective and accurate values to correctly diagnose a patient.

This study, performed by DyCare, aims to compare two HHD devices. A prototype developed by the company against a widely used dynamometer, produced by Lafayette Manual Muscle Testing System Model-01165. Two different tests are performed, a first static test in which a set of reference weight are loaded on top of the device, and a dynamic test in which knee extension and flexion are measured on several volunteers. It is expected to prove that the newly developed HHD can be used to perform dynamometry test with the same accuracy as the currently homologated HHD. If positive results were achieved, a new dynamometry module would be included in Lynx, an already existing software developed by the company which allows to perform a functional assessment of joint disorders by quantifying all the biomechanical parameters of the movement captured by motion sensors.

2. Methodology

2.1. Instrumentation

Two HHDs were used to assess lower limb strength and power: a Lafayette Manual Muscle Testing System Model-01165 (Lafayette Instrument Company, Lafayette IN, USA) and a DyCare (DyCare®, Spain). The approximate retail cost of the Lafayette device is US\$1,200 (plus US\$495 for the software package), while the DyCare device, will have a price rounding the 500\$.

The Lafayette's HHD was used without applying modifications, as according to its specifications it remained calibrated during the period in which the study is performed. The DyCare one was calibrated once at the start of the study using weights and a DyCare software, Lynx, is used to present and analyse the data captured by the HHD prototype.

2.2. Participants

In the second experiment of this paper, involving measurements with the HHD on volunteers, 6 healthy subjects were recruited. Participants inclusion criteria were; to be over 18 Y.O., absence of lower limb injury in the two months prior to the measurement or other comorbidities such as cardiovascular or respiratory conditions that could potentially impact on the assessment of muscle strength and power.

2.3. Static benchmark using reference weights

The first test carried out to validate the new dynamometer developed by DyCare, consists of analysing the error of each device when measuring different weights. The same setup is built for both dynamometers (the one from DyCare and the one from Lafayette). As the supports provided by Lafayette were not big enough to place the weights on top, a bigger platform was built using a 3D printer and to provide the same conditions to both devices, a 3D printed platform was also used on the DyCare device. This platform works as a bracket to hold all the different weights on top of the device. Furthermore, a mould was built for the Lafayette device to provide support and stabilize it, as its base is rounded.

In order to perform this validation test, charges ranging from 1 to 12 kg were used. The different weights were placed on the platforms and for each measurement, the maximum weight value recorded by the software after stabilisation was registered and compared against the physical weight placed on the platform. The error measured was the difference between the maximum weight value given by the software and the real weight value. Each time the test is performed 12 different measurements are performed for each device, which makes a total of 24 measurements per session. The weights were centred and stacked on top of both devices in two different configurations: first, each weight is progressively piled one on top of the other, while in the second configuration, the load is loaded all at once.

The whole procedure is repeated seven times to assess if the time elapsed from the calibration to the measurement affected the measurement. Afterwards, a statistical study was performed to assess if the performance of the prototype produced by Dycare is similar to an homologate dynamometer.

2.4. Dynamic benchmark on volunteers

The second test, aims to evaluate the reproducibility and repeatability of the device. Currently there is no consensus on the most appropriate testing positions for patients when using an HHD. A recent systematic review demonstrating a variety of methodologies used for lower limb assessment in previous research [5]. Based on prior research, it was decided to implement a sitting position to measure knee flexion and extension, as shown in Figure 1. Two different OPs with similar experience in using a HHD performed four measurements of knee flexion and knee extension with both devices to six healthy participants. On all the volunteers, the dynamometer was always located in front the shank to test the knee extension muscles and behind the shank to test the knee flexion muscles (Figure 1).



Figure 1. a) Testing position for knee extension dynamometry test. b) Testing position for knee flexion dynamometry test.

To perform the measurement, the OP had to apply force manually to the device, which was in contact with the lower leg of the subject, proximal to the ankle joint. The forced applied by the OP had to be enough to maintain an isometric extension thus countering the force from the leg of the subject with their arm and preventing the movement of the joint. [6]

However, one of the OP had to do the measurements with the back against a wall to be able to sustain the force applied by the volunteers, as the OP was unable to perform the measuring procedure correctly due to the high force applied on the device by the muscles of the subjects.

3. Results

The graph in Figure 2 shows the values obtained with both HHDs for the first test. In the graph, the means of the different measurements done during the test are represented and the results from both devices are of the same order.



Figure 2. Mean of the values obtained for each weight with both devices throughout the test

In Figure 3, the mean absolute value between real and measured value for each device. The error mean of all measures done DyCare, is 0.1 ± 0.03 kg.



Figure 3. Mean of the error of every measurement in absolute value of both devices

Regarding the second experiment, explained in 2.4, aimed at evaluating the repeatability of the DyCare device measurement, we analysed and compared the standard deviation of the measurements, differentiating between OP and device. Figure 4, shown below, presents four boxplots displaying the distribution of data.



Figure 4. From left to right, the following boxplots represent: 1-dispersion of the measurements of OP 1 using DyCare device. 2-dispersion of the measurements of OP 1 using Lafayette device.
3- dispersion of the measurements of OP 2 using DyCare device.
4- dispersion of the measurements of OP 2 using Lafayette

device

4. Discussion

The purpose of this study is to validate the new dynamometer developed by DyCare. In order to achieve this objective, two different tests have been performed and the results showed comparable performances and error between the Dycare prototype and the homologated dynamometer.

Regarding DyCare device calibration, no statistically significant differences were seen in the results provided by the device at the begging of the study and after almost 200 measurements (roughly 100 measurements per each of the two tests). Therefore, it can be assumed that the device remained calibrated during the whole study.

4.1. Dynamometer margin of error

Concerning the setup used to study the margin of error, it was noticed that the position and the combination of the weights used to reach a certain charge influenced the result. It was observed that the error was lower when using weights with small bases rather than when using weights with large bases by a small margin, 0,2 kg. The smaller the base, the easier it was to centre them, and less momentum was created. Therefore, it is recommended to use weights with small bases rather than weights with large areas for testing.

On the other hand, the weights had to be perfectly centred and perpendicular to the platform to accurately register the real applied charge. Therefore, the setup of the study, and particularly the stabilisation, plays a relatively important role. During the study, using the HHD by DyCare, it has been seen that the platform could be bolted or press-fitted to the device. It was realised that the results were better when the platform was bolted to the device because the stability increases leaving an almost negligible error. However, it has been seen that most HHD in the market use press-fitted platforms.

Furthermore, how the maximum weight was reached also influenced the result. It was observed that the output value of the device is closer to the real charge when the final weight is achieved by a progressive loading rather than when placing all the weight on top of an empty device each time, which is reasonable if the protocol of HHD measurements is considered (when measuring with an HDD, the OP asks the patient to progressively increase the strength they apply to the device and then to apply a final push with maximal strength). The difference in error was of only 0,2 kg, but when using it on a patient, the error could escalate depending on how the patient's force is applied.

Considering the results achieved for this first test, which are displayed in Figure 3, the mean absolute error from both devices is calculating and it is around 0,2 kg. This mean error (0,2 kg) found when using weights ranging from 1-12 kg does not represent a substantial source of uncertainty in HHD measurements as there are other factors having a greater influence, such as motivation of the subject and the OPs skills.

In addition, a few factors must be considered, first of all, the fact that the results from the DyCare device were as good as the ones from a device whose datasheet specifies a margin of error of less than 0,5%. Furthermore, only one decimal was used when measuring, as the Lafayette device only provides one decimal and the values from DyCare were rounded for fairness. Finally, the setup could be one of the causes of induced error for all the factors mentioned before [7].

With this information, it can be concluded that the precision given by DyCare device is acceptable to perform dynamometry tests with results as good as the ones from homologated devices. However, considering that the force produced by healthy subjects when evaluating the knee flexors and extensors can reach values of 30 kg, it will be interesting to analyse the error's behaviour when using larger weights, to check if the error from both Lafayette and DyCare remains low both in relative and absolute terms.

4.2. Repeatability and Reproducibility test

After performing the measurements on the volunteers with both HHDs, some important differences

were noted. The Lafayette device has a finished exterior design, so it was much more comfortable to hold when performing measurements to patients. Therefore, the next step that DyCare should consider in order to improve their product is the creation of a comfortable holding support according to the feedback given by the two OPs.

Calculating the mean value of the measurement dispersion of all OP and devices presented in Figure 4 is 0,5 kg. Moreover, there are several factors that should be taken into account, the first one, which has been already mentioned, is related with the fact that one of the OP had to do the measurements with the back against a wall to be able to sustain the force applied on the device while maintaining the balance. Furthermore, the subjects probably gained experience during the tests and their motivation to do a maximal force also varied, being one of the main causes of differences [8] - [10].

4.3. Other aspects to be considered

Considering the technical similarities between both devices it would be interesting to consider other aspects of the device such as cost, comfort of use or data display. As it has been aforementioned, the proposed device offers the same amount of information than Lafayette, but at a lower price. However, DyCare HHD oblige the user to use an external software (Lynx) to capture and display data, while Lafayette incorporates a small screen to display the main information.

Furthermore, in terms of comfortability of the operator a new grip to improve measurements with high forces is being designed. This new design aims to direct the force directly to the arm, instead of going to the middle of the palm, as it is done in most HHD as Lafayette. This would improve comfort and reduce wrist pain after several measurements.

Finally, it is important to highlight that the HHD offered by Lafayette is a commercialised device which includes several heads specially designed to measure specific muscle groups. However, this aspect is still in a very initial stage in the HHD developed by DyCare. This means that HHDs, like Lafayette one, are, for the moment, more stable and comfortable for the patient.

5. Conclusions

This study shows that the measurement error presented by the DyCare's dynamometer, both in its isolated measuring capabilities and when performing tests with volunteers, is in range with similar HHD that are homologated and in the market. Moreover, it has been shown that the results from measuring knee flexion and extension using the DyCare device are similar to the ones obtained using Lafayette in terms of mean and standard deviation of the values. A posterior study is being made with a larger sample size, in order to study numerically the inter and intra-operator differences.

Both the data and the observations made during the study, such as the different needs and positions of the OP to perform the measurements leads to the assumption that the operator might be the cause of an important percentage of the error in the HHD measurements, particularly in measurements of the lower limb muscles, as the force produced by the subject is high and the operator may have trouble countering the force to make the measurement. Furthermore, the fact of having the body of the OP in front of the patient might induce selfrestraint to avoid hitting the OP. This factor will be further analysed with a bigger sample to check if the differences are statistically significant. Furthermore, after realising that there is variability in both devices, a study will be further realised to reduce part of the error by eliminating the variability induced by the operator.

Finally, it should be highlighted that the DyCare device is part of a more complete measurement framework called Lynx which apart from offering information about the measurement, as Lafayette, it also includes the possibility to do functional evaluations, compare measurements or follow the subject's evolution.

Acknowledgements

This work was partially supported by the MICINN Grant RTI2018-095232-B-C21, 2017 SGR 1742, NEOTEC-SNEO-20171132 and 811755 – ReHub –2018-2020/H2020-SMEInst.

References

- [1] W. K. Kim, D. K. Kim, K. M. Seo, and S. H. Kang, "Reliability and validity of isometric knee extensor strength test with hand-held dynamometer depending on its fixation: A pilot study," *Ann. Rehabil. Med.*, 2014.
- [2] S. M. Jackson, M. S. Cheng, A. R. Smith, and M. J. Kolber, "Intrarater reliability of hand held dynamometry in measuring lower extremity isometric strength using a portable stabilization device," *Musculoskelet. Sci. Pract.*, 2017.
- [3] M. A. G. Roy and T. J. Doherty, "Reliability of hand-held dynamometry in assessment of knee extensor strength after hip fracture," *Am. J. Phys. Med. Rehabil.*, 2004.
- [4] R. W. Bohannon, "Test-Retest Reliability of Hand-Held Dynamometry During a Single Session of Strength Assessment," *Phys. Ther.*, 1986.
- [5] T. Stark, B. Walker, J. K. Phillips, R. Fejer, and R. Beck, "Hand-held dynamometry correlation with the gold standard isokinetic dynamometry: A systematic review," *PM and R.* 2011.
- [6] B. F. Mentiplay *et al.*, "Assessment of lower limb muscle strength and power using hand-held and fixed dynamometry: A reliability and validity study," *PLoS One*, 2015.
- [7] O. Shechtman, L. Gestewitz, and C. Kimble, "Reliability and validity of the DynEx dynamometer," *J. Hand Ther.*, 2005.
- [8] L. J. Hébert, D. B. Maltais, C. Lepage, J. Saulnier, and M. Crête, "Hand-Held Dynamometry Isometric Torque Reference Values for Children and Adolescents," *Pediatr. Phys. Ther.*, 2015.
- [9] P. P. M. Schrama, M. S. Stenneberg, C. Lucas, and E. Van Trijffel, "Intraexaminer reliability of hand-held dynamometry in the upper extremity: A systematic review," Archives of Physical Medicine and Rehabilitation. 2014.
- [10] C. M. Arnold, K. D. Warkentin, P. D. Chilibeck, and C. R. A. Magnus, "The reliability and validity of handheld dynamometry for the measurement of lower-extremity muscle strength in older adults," *J. Strength Cond. Res.*, 2010.

Herramienta para la personalización de las medidas de protección radiológica en terapias metabólicas

P. Gómez-Valiente¹, J.M. Iniesta-Chamorro¹, P. García-Castañón², J. Tapia-Galisteo¹, M.E. Hernando^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Centro de Tecnología Biomédica, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, {pgomez, jminiesta, jtapia, maria.elena}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Radiofísica y Protección Radiológica, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España, pgcastanon@salud.madrid.org

³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER, Madrid, España

Resumen

Las terapias metabólicas con el radioisótopo yodo-131 constituyen uno de los principales tratamientos para patologías tiroideas. La terapia persigue la pérdida total o parcial de la función, provocando para ello la muerte de las células diana, con el problema asociado de que la radiación que emite dicho radioisótopo es capaz de atravesar el cuerpo del paciente y puede alcanzar a las personas que se encuentran en su entorno, con especial impacto en grupos sensibles como son los niños y las mujeres embarazadas. Por tanto, en los días posteriores al tratamiento, los pacientes deben limitar su interacción con otras personas del entorno v mantener estas restricciones durante un número determinado de días hasta que eliminen la dosis de radioisótopo recibida. Las restricciones y el número de días que se han de aplicar se pueden prescribir de una manera genérica o bien personalizarlas para cada paciente y sus condiciones particulares. El objetivo de este trabajo es diseñar y desarrollar una herramienta web de uso profesional que permita: (1) personalizar la duración de las medidas de protección radiológica que debe adoptar el paciente; (2) digitalizar todo el proceso clínico con un diseño orientado al profesional sanitario, facilitando así su labor diaria.

1. Introducción

1.1. Contexto clínico

El uso de las propiedades nucleares de los radioisótopos con fines terapéuticos representa, hoy en día, una práctica común en los países desarrollados, donde una de cada 500 personas es sometida a un tratamiento con este objetivo [1]. Los radioisótopos son átomos en un estado inestable que emiten radiación en su transformación a elemento estable en el proceso de decaimiento radiactivo. Esta radiación se emplea en tratamientos que persiguen la pérdida de la función de células específicas o incluso su propia muerte celular [2]. De sus múltiples aplicaciones terapéuticas, destacan las terapias en Medicina Nuclear para paliar desórdenes metabólicos. De entre todos los radioisótopos usados para tratamientos metabólicos destaca el Yodo 131 (yodo radiactivo, en adelante, I-131) por su frecuente uso desde su descubrimiento en el s. XX [3].

El yodo está presente de forma natural en el organismo y procede mayoritariamente de la ingesta de alimentos y agua (yoduros). Es absorbido por el aparato digestivo, y tras su localización en el plasma sanguíneo es captado principalmente por el tejido tiroideo funcional para la síntesis de las hormonas tiroideas T3 (triyodotironina) y T4 (tiroxina) [4]. Existen otros tejidos que también pueden captar yodo, pero en menor medida que la tiroides (placenta, glándulas mamarias y salivales, entre otros).

Al igual que el yodo estable (I-127), el yodo radiactivo (I-131) presenta una alta afinidad por la glándula tiroides [2], lo cual justifica el empleo del radioisótopo para tratar patologías tiroideas, eliminando mediante la radiación que emite las células dañadas. Las afecciones que pueden requerir esta terapia metabólica abarcan enfermedades tiroideas benignas, como el hipertiroidismo, y malignas, como el cáncer de tiroides (ablación y metástasis). Es en estas patologías en las que se centra el presente trabajo.

1.2. Protección radiológica en la práctica clínica

El radioisótopo I-131 emite radiación ionizante, en concreto, partículas β (con un alcance corto en tejido de hasta 2 mm [4], responsables del poder terapéutico al dañar las células donde este se concentra) y radiación γ . Esta última es de alta energía, con un alto poder penetrante, y por tanto es capaz de atravesar el cuerpo del paciente y exponer a dicha radiación a las personas de su alrededor. Además, los pacientes son una fuente de radiación hasta que eliminen el radioisótopo, principalmente por la orina.

Las personas del entorno pueden estar expuestas a dosis de radiación por las siguientes vías [2]:

- La exposición externa: irradiación por situarse cerca del paciente sometido al tratamiento. Cuanto más cerca del paciente se sitúe la persona, y cuanto más tiempo permanezca a su lado, mayor dosis de radiación recibirá.

- La exposición interna: irradiación por contacto directo con sudor, saliva u orina o la ingestión de I-131 expulsado por el paciente.

- La exposición medioambiental: irradiación a través del sistema de alcantarillado o de vertidos directos en el agua.

Por tanto, es recomendable minimizar la exposición de familiares, amigos y terceras personas a estas vías de modo que no reciban una dosis de radiación superior a los niveles de restricción de dosis decretados por la Organización Internacional de la Energía Atómica (OIEA).

Los niveles de restricción de dosis se establecen con el objetivo de evitar efectos deterministas y disminuir la probabilidad de presentar efectos estocásticos de la radiación, como el desarrollo de cáncer inducido por la radiación procedente del paciente [2]. Esta probabilidad aumenta si se incrementa la dosis de radiación recibida, y, además, la edad representa un factor de riesgo, siendo la probabilidad mayor cuanto menor edad presente la persona del entorno, debido a la radiosensibilidad de las células poco diferenciadas. Con lo cual, para los grupos de riesgo como los niños y las embarazadas (con el objetivo de proteger al feto) se aplican unas restricciones de dosis más altas (más restrictivas, menor dosis).

1.3. Cálculo del periodo con restricciones

El Foro de Protección Radiológica en el Medio Sanitario ha publicado un documento que unifica la aplicación en nuestro país de las recomendaciones básicas internacionales, denominado "Criterios de alta de pacientes y medidas para la protección radiológica del público después de tratamientos metabólicos con 1-31I" [3]. En dicho documento se establecen las recomendaciones generales y también los procedimientos para calcular las restricciones radiológicas personalizadas en cada contexto.

Los profesionales actualmente consultan con los parámetros recabados en la terapia unas tablas definidas por intervalos, siendo así el procedimiento más generalista.

En la consulta, el personal de enfermería administra las cápsulas con I-131 al paciente y con posterioridad se utiliza un monitor de radiación ambiental para medir la tasa de dosis emitida por el paciente a 1 metro de distancia y a la altura del tórax. Después, el radiofísico realiza una encuesta al paciente donde le hace preguntas sobre las personas de su entorno (con quién vive diariamente: niños o embarazadas, por ejemplo), si dispone de habitación individual o baño exclusivo, su situación laboral y si tiene algún evento social próximo. Esta información se anota en la hoja del Servicio junto con los datos del tratamiento administrado y datos personales del paciente.

Atendiendo a la tasa de dosis emitida y a la información que le ha proporcionado el paciente, el radiofísico consulta las tablas anteriormente mencionadas. El resultado de aplicarlas es el número de días durante los cuales el paciente debe mantener una convivencia restringida con su entorno (dormir solo o no convivir en el mismo domicilio con niños pequeños, por ejemplo), no asistir al trabajo y/o mantener unas medidas de higiene (no compartir toallas ni sábanas, entre otras).

Este procedimiento es tedioso, ya que el radiofísico debe realizar búsquedas en dichas tablas a la vez que anotar el número de días tanto en la hoja a archivar por el Servicio como en la que entregará al paciente, lo que aumenta la posibilidad de cometer errores tanto en la búsqueda como en la anotación, y adicionalmente consume mucho tiempo. Por otro lado, al ser una tabla ya configurada, se asumen determinadas circunstancias del paciente que pueden no ajustarse al caso en concreto.

La posibilidad de personalizar las medidas de protección radiológica que debe adoptar el paciente hace patente la

capacidad de mejora en los tratamientos actuales, resultando que en algunos casos se reducen los días innecesarios de restricción, mientras que en otros se aumentan, lográndose una personalización que garantice una mejor protección radiológica de las personas del entorno. Por otro lado, la integración de las Tecnologías de la Información y Comunicación en la práctica clínica de los profesionales sanitarios permite optimizar el flujo de trabajo en los procedimientos y, por tanto, mejorar la calidad asistencial.

El objetivo de este trabajo es desarrollar y diseñar una herramienta destinada a los profesionales sanitarios para que puedan llevar a cabo la personalización de las medidas de protección radiológica de paciente tratados con I-131. Adicionalmente, la aplicación no solo debe actuar como una calculadora médica de dichas medidas de protección, sino que esta también debe permitir registrar la información de manera digital y estructurada en una base de datos, así como generar de forma automática las hojas de instrucciones del paciente y del Servicio, que actualmente se cumplimentan de forma manual.

2. Materiales y métodos

2.1. Personalización

Las medidas de protección radiológica se personalizan de acuerdo con las circunstancias sociales y laborales del paciente, aplicando cálculos matemáticos basados en la fórmula propuesta (Figura 1) en el Anexo 3.A "Procedimiento para el cálculo individualizado de las dosis de radiación y determinación del periodo de restricciones" por el Foro de Protección Radiológica en el Medio Sanitario en el documento anteriormente mencionado [3].

$$Tcr = -Tef * \ln \left[\frac{RD - m1 * TD1 * Tef}{(n1 * TD1 + n2 * TD2)} - m1 * TD1 * Tef \right]$$
Given det

Siendo

Tef= Vida media efectiva (biológica y física) del I131 en días=1/λef

RD, la restricción de dosis aplicable, ver tabla 2 del texto, en µSv

n1, n2= número de horas en cada distancia especificada en el periodo sin restricciones, en las que las tasa dosis en el alta fueron TD1 y TD2 ver tabla 3.B 1.

"m1"= número de horas a la distancia especificada en el periodo con restricciones a la distancia TD1, ver tabla 3.B 1.

TD1= tasa de dosis a 1 metro medida en el alta del paciente, μ Sv/h TD2= Tasa de dosis medida a la distancia representativa del contacto con el paciente, en μ Sv/h

Figura 1. Fórmula de referencia

Las entradas principales de la fórmula matemática son: (1) la restricción de dosis correspondiente con la persona del entorno a la cual se quiere proteger; (2) el número de horas que convive el paciente a 1 metro de distancia de la persona del entorno en el día a día; (3) el número de horas de convivencia que no debe sobrepasar el paciente a 1 metro de la persona del entorno durante el periodo con restricciones; (4) la tasa de dosis a 1 metro (μ Sv/h). La ecuación debe resolverse para cada una de las personas del entorno del paciente y sus entradas se fijan automáticamente con los datos introducidos en las secciones del formulario. El resultado es el número de días en los que el paciente debe cumplir la restricción (mantener

una convivencia restringida con la persona en cuestión, no asistir al trabajo, o adoptar medidas de higiene).

En el caso concreto del entorno laboral, se consideran el número de horas laborales y la distancia que guarda el paciente con respecto a sus compañeros, para así determinar el número de días de no asistencia. Con el método tradicional se asumía que una persona trabaja 8 horas, como mínimo a 1 metro de distancia del resto de sus compañeros, lo cual evidencia que es posible personalizar adecuando las entradas de la fórmula a cada paciente.

2.2. Análisis de requisitos y diseño

El análisis inicial realizado en el hospital permitió identificar los siguientes requisitos:

- Aplicación multiplataforma que permita el cambio de los dispositivos de usuario y el funcionamiento en cualquier sistema operativo.
- Independencia de conexión a Internet para evitar interrupciones durante la práctica clínica.
- Almacenamiento en base de datos situada en el propio dispositivo donde la aplicación se ejecute.
- Copia de seguridad *(backup)* en una base de datos alojada en un servidor del hospital.
- Autenticación al inicio de sesión con una cuenta y una contraseña registradas previamente.
- Generación automática de los documentos de instrucciones personalizadas para los pacientes y de la hoja de registro para el Servicio. Los documentos deben contener los datos identificativos del paciente, las restricciones a seguir por este y el periodo de duración de cada una.
- Acceso a registros de tratamientos anteriores.

Para cumplir con los requisitos anteriores se optó por las tecnologías web HTML, CSS, Javascript y Angular junto con los frameworks Cordova e Ionic para el desarrollo multiplataforma; base de datos local SQLite; NodeJs como servidor Web; MySQL como gestor base de datos y la librería PDFMAKE para la generación de documentos en formato PDF.



Figura 2. Esquema funcional

La Figura 2 muestra el esquema funcional de la aplicación, de acuerdo con los requisitos mencionados anteriormente, de forma que su diseño responde al flujo de trabajo seguido en consulta en la práctica clínica habitual.

2.3. Arquitectura del sistema

En la Figura 3 se muestra la arquitectura del sistema en el que se integra la aplicación desarrollada, *Lambda Care*, con el logo de la misma.

En primer lugar, se encuentra la aplicación instalada en el dispositivo a utilizar por el radiofísico en la consulta. Los datos de registro de cada tratamiento se almacenan en una base de datos situada en el propio dispositivo.



Figura 3. Arquitectura del sistema

Adicionalmente, la aplicación está conectada mediante Wifi a la red sanitaria SERMAS por la que deben circular los datos clínicos del hospital. Esta conexión permite enviar los datos de cada registro, a modo de copia de seguridad (*backup*), a la base de datos situada en el servidor del hospital. Por otro lado, a dicha red está conectada una impresora, lo cual posibilita el envío para su impresión, desde el dispositivo, del documento a entregar al paciente. Se debe mencionar que esta arquitectura está contenida dentro del hospital, sin hacer uso de agentes y recursos externos, lo cual la provee de mayor seguridad.

3. Resultados

Una vez que el usuario ha iniciado sesión en la aplicación, este es conducido a un menú, donde para registrar un tratamiento debe seleccionar previamente qué patología tiene el paciente (hipertiroidismo, ablación de restos tiroideos o metástasis). Posteriormente, el usuario es redirigido a un formulario dividido en las siguientes secciones: (1) datos de identificación; (2) datos del tratamiento (Figura 4); (3) hogar y cuidados personales; (4) familiares y amigos íntimos (Figura 5); (5) trabajo, transporte y eventos. Cada sección presenta una barra de progresión como guía en el registro del tratamiento.

Lambda Care		TRATAMIENT			-
5		TRATAMIENT	O PARA HIPERTIROIDISMO		
1-	2	3	4	6	6
DATOS DE IDENTIFI	CACION DATOS DEL TRATAMIENTO	HOGAR Y CUIDADOS PERSONALE	S FAMILIARES Y AMIGOS INTIMOS	TRABAJO, TRANSPORT EVENTOS	E Y RESULTADOS Y RECOMENDACIONES
	Fecha de calibración Puísa aquí		Fecha de caducidad Puísa aquí		
	Número de lote Escriba aquí		Actividad administrada* (MBa 370	0 -	
	Fecha de administración* Pulsa aquí		622	0	
	Tasa de dosis a 1 metro* (uSv/h) Pulsa aquí		Otro musu aqui	0	
	Zona medida Escriba aqui		Detector empleado Seleccione		

Figura 4. Datos del tratamiento

Con el objetivo de disminuir tanto el tiempo que se invierte en cumplimentar estos datos como el error humano, los campos a completar se implementaron mediante selectores, botones y casillas, añadiendo restricciones para su correcto registro. Además, se implementaron nuevos campos para recabar más información. Por otro lado, se añadieron medidas de seguridad que no permitiesen avanzar en el formulario si no se habían cumplimentado los campos obligatorios, mediante indicaciones visuales, mejorando así la usabilidad.

 Lo 	nbda Care				- a ×
	DATOS DE IDENTIFICAN	2 CIÓN DATOS DEL TRATAMIENTO	3 4 HOGAR Y CUIDADOS PERSONALES FAMILIARES Y AMIGOS ÍNTIMOS FAMILIARES Y AMIGOS ÍNTIMOS	5 TRABAJO, TRANSPORTE Y EVENTOS	6 RESULTADOS Y RECOMENDACIONES
	,	PAREJA (Obligatorio)			
		Si la pareja está embarazada, independio	intemente de la edad, marque únicamente "Embarazada".		
		Adulto/a mayor de 60 años		0	
		Adulto/a menor de 60 años		0	
		Embarazada		0	
		No aplica		0	
	E	EMBARAZADAS (Obligatorio) Seleccione si el paciente convive diarian	rente con embarazadas (no tenga en cuenta su pareja ni su trabajo).		
		si		0	
		No		0	

Figura 5. Familiares y amigos íntimos

Posteriormente, con los datos introducidos, se calcula la duración (en días) de las medidas de protección radiológica en relación con las personas del entorno del paciente, la asistencia al trabajo y a eventos sociales, y la adopción de medidas de higiene, y se muestran los resultados en la página *Resultados y Recomendaciones* (Figura 6).

En esta página aparece una tabla por cada tipo de restricción (higiene, ausencia en el trabajo y convivencia restringida) con dos filas. La primera se corresponde con los resultados de la fórmula ("Días calculados"), los cuales aparecen también por defecto en la segunda fila ("Días recomendados"), la cual es editable y corresponde con los días que prescribe el radiofísico. Así, si está de acuerdo con el resultado de la fórmula, no tendrá que rellenar manualmente cada una de las columnas de la fila. Debe prevalecer el juicio del radiofísico sobre los resultados obtenidos, pudiendo este modificarlos en caso de creerlo necesario. De esta manera, el número de días fijado será el que provenga de esta fila y, por lo tanto, el que aparezca en el documento del paciente.



Figura 6. Resultados y recomendaciones

Finalmente, el tratamiento registrado se guarda en las bases de datos y se generan automáticamente los documentos del paciente y del Servicio. En consonancia con la filosofía de diseñar una herramienta que facilite su uso para el profesional sanitario en la consulta, el botón que permite generar los documentos permite que se abran de forma automática mediante el programa para visualizar documentos por defecto del dispositivo. Así, estos documentos pueden ser enviados a imprimir en el acto. Se debe destacar que disponer del documento en formato digital garantiza que, ante extravíos por parte del paciente, se pueda generar la hoja de instrucciones de manera inmediata otra vez y que, en el futuro, se pueda evitar la práctica habitual de imprimirlo y así enviarlo por otros canales como el correo electrónico, reduciendo la necesidad de utilizar otros recursos materiales.

Desde el menú principal se puede acceder a buscar un tratamiento, a la ayuda para guiar al usuario por la aplicación y a la información de contacto.

La herramienta se encuentra actualmente instalada en el Hospital con el fin de ser sometida a una validación clínica.

4. Conclusiones

La aplicación desarrollada en este trabajo constituye una herramienta que podría permitir a los profesionales sanitarios beneficiarse del empleo de las Tecnologías de la Información y la Comunicación para la personalización de las medidas de protección radiológica. Así, se sumaría a la tendencia actual de personalizar la medicina, repercutiendo en la salud del paciente y en las personas que le rodean.

Esta aplicación permitiría registrar los tratamientos y almacenarlos en bases de datos, contribuyendo así a la transformación digital en el ámbito clínico.

Por último, en referencia a su integración en la práctica clínica, la interfaz que presenta está orientada a un profesional sanitario, cuya formación suele ser íntegramente física y clínica, y con tiempo limitado en consulta. Por tanto, se ha perseguido que esta se pueda integrar en la práctica clínica diaria sin alteraciones drásticas en el flujo de trabajo de los profesionales sanitarios mediante la implementación de elementos en el diseño que favorezcan su uso a diario.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración del Servicio de Radiofísica y Protección Radiológica y del de Informática del Hospital Universitario de La Princesa en el desarrollo del proyecto.

Referencias

- Página web de World Nuclear Association. https://www.world-nuclear.org/information-library/nonpower-nuclear-applications/radioisotopesresearch/radioisotopes-in-medicine.aspx (Consultada: Agosto 2019)
- Página web de la Comisión Europea (1998). https://ec.europa.eu/energy/sites/ener/files/documents/097_ es.pdf (Consultada: Junio 2019)
- [3] Página web de la Sociedad Española de Protección Radiológica (SEPR). https://www.sepr.es/profesionales/descargables/download/7 7-foro-de-pr-en-el-medio-sanitario/4108-criterios-de-altade-pacientes-sometidos-a-tratamiento-de-i-131-2011 (Consultada: Junio 2019)
- [4] Barquero R, Ferrer N, Luis J, Martí JM, Martínez LC, Mínguez P, Montes C, Ángeles, Plaza R, Rivas MA. Procedimientos recomendados de dosimetría de pacientes en tratamientos de hipertiroidismo con 1311. Grupo de trabajo de dosis tras la administración de radiofármacos de la S.E.F.M. Revista de Física Médica, vol 18, N° 2, 2017, pp 143–176 (ISSN: 1576-6632).

Mapas de correspondencias y auto-codificadores para el análisis de grupos de pacientes crónicos

N. López-García¹, C. Soguero-Ruiz¹, I. Caballero-López-Fando², A. Gómez-Delgado³, I. Mora-Jiménez¹

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

Fuenlabrada, España, {n.lopezgar@alumnos.urjc.es, cristina.soguero@urjc.es, inmaculada.mora@urjc.es}

²Hospital Universitario de Fuenlabrada, Fuenlabrada, Madrid, España,{icaballero@salud.madrid.org}

³Hospital Universitario del Sureste, Arganda del Rey, Madrid, España,{agomezdelgado@salud.madrid.org}

Resumen

El aumento de la esperanza de vida, unido a la prevalencia de patologías crónicas con la edad, hace que un volumen importante de recursos se dedique a la atención de pacientes crónicos. Es de ahí la relevancia que el abordaje de las enfermedades crónicas tiene para nuestra sociedad, constituyendo un reto para el actual Sistema Nacional de Salud, más orientado al tratamiento de pacientes agudos que de crónicos. El objetivo de este trabajo es analizar la relación existente entre las principales cronicidades, a saber, hipertensión y diabetes, y los diagnósticos y fármacos asociados a grupos de pacientes con estas enfermedades crónicas dominantes. Para llevarlo a cabo, en primer lugar, se considera la técnica descriptiva de Análisis de Correspondencias para crear mapas que reflejen visualmente la relación entre grupos de pacientes crónicos y diagnósticos y/o fármacos. Posteriormente, se evalúa el potencial de un esquema de aprendizaje interpretable como k-NN, tanto cuando se aplica sobre el espacio de características original como tras considerar una transformación del mismo utilizando autocodificadores. Entre otros, los resultados obtenidos sobre un conjunto de casos proporcionados por el Hospital Universitario de Fuenlabrada (Madrid) permiten concluir que los pacientes con estas enfermedades crónicas tienen una mayor probabilidad de padecer trastornos mentales. Los resultados también ponen de manifiesto el potencial de los auto-codificadores como transformadores de características para mejorar la capacidad predictiva de los esquemas de clasificación.

1. Introducción

Es una realidad que las enfermedades crónicas afectan a un porcentaje cada vez más alto de la población, aprox. 30% en 2018 según el Instituto Nacional de Estadística [1], siendo responsables del 80% de las consultas de Atención Primaria (AP) y del 60% de los ingresos hospitalarios. Cualquier grupo de edad es propenso a padecer alguna cronicidad, lo que a largo plazo puede producir una reducción de la calidad de vida del paciente, afectando tanto a su entorno social como al Sistema Nacional de Salud (SNS). Un paciente crónico puede padecer una o varias enfermedades crónicas, siendo la longevidad uno de los factores más relevantes en el incremento de este tipo pacientes [2]. En concreto, España se considera un país con una sociedad envejecida, que lo será aún más con el paso de los años, según refleja su pirámide de población [2].

El objetivo de este trabajo es profundizar en el análisis de los datos asociados a grupos de pacientes con hipertensión y diabetes, dos enfermedades con alto impacto tanto en porcentaje de pacientes como en consumo de recursos. Tras determinar la asociación entre datos y patologías, se podría facilitar a los pacientes más información sobre la evolución de su estado de salud y, lo que es más importante, una guía de cuidados que permitieran ralentizar esa evolución prevista. Ello redundaría tanto en una mejor calidad de vida como en un uso menos intensivo de los recursos sanitarios. Para estratificar a la población se ha utilizado el sistema de clasificación denominado Grupo de Riesgo Clínico o CRG (Clinical Risk Group), versión 1.8. El CRG hace uso de datos demográficos, diagnósticos, procedimientos y fármacos, y asigna cada paciente a una única categoría que representa su estado de salud [3]. Así, el CRG-5192 representa pacientes cuya única cronicidad es hipertensión, caracterizados por tener, de manera persistente, una tensión elevada en los vasos sanguíneos [4]. Según la Encuesta Nacional de Salud de 2017, la hipertensión es la cronicidad con más prevalencia en la población española: el 19,8 % de la población mayor de 15 años es hipertensa, porcentaje que se prevé siga aumentando en los próximos años. La segunda cronicidad considerada es la diabetes, desencadenada cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no utiliza con eficacia la insulina que produce. La diabetes está catalogada como una de las cuatro cronicidades que necesitan ser intervenidas con carácter prioritario, ya que el número de diabéticos ha aumentado a un ritmo bastante elevado y no parece que vaya a disminuir [5]. Los pacientes cuya única enfermedad crónica dominante es la diabetes aparecen estratificados en el CRG-5424. Los pacientes con dos enfermedades crónicas dominantes (las aquí consideradas) se estratifican en el el CRG-6144, y en el CRG-7071 los pacientes con tres enfermedades crónicas dominantes (diabetes, hipertensión y otra cronicidad, que con frecuencia corresponde a la Enfermedad Obstructiva Pulmonar Crónica o EPOC).

2. Métodos

2.1. Análisis de Correspondencias

El Análisis de Correspondencias (AC) es una herramienta estadística que permite analizar sobre un mapa bidimensional la asociación entre variables categóricas [6]. Las dimensiones del mapa se interpretan como transformaciones de las categorías originales, representándose cada categoría como un punto (o vector, en el caso de unir el punto con el origen de coordenadas del mapa). Para cada dimensión, el AC proporciona un valor numérico que representa el porcentaje de inercia capturado por cada dimensión.

Sobre el mapa resultante del AC, las asociaciones entre categorías se pueden establecer interpretando la distancia obtenida al proyectar los vectores asociados a dos categorías. Equivalentemente, también se puede considerar el ángulo que forman dos vectores, de modo que cuanto más agudo sea el ángulo, mayor es la asociación entre las categorías.

2.2. Clasificador de los k Vecinos Más Próximos

El clasificador de los k Vecinos Más Próximos o k-NN (k-Nearest Neighbors) es un esquema de clasificación local no paramétrico fundamentado en la plausibilidad de que muestras próximas en el espacio de representación tengan una probabilidad a posteriori similar [7]. El más sencillo de los esquemas es el k-NN por votación, que clasifica una muestra con la etiqueta asociada a la clase más representada entre las k muestras más próximas. Para determinar el número k de vecinos a considerar se suele considerar una estrategia de validación cruzada [8]. En este trabajo, el valor de k se determina reservando como conjunto de validación el 20% de las observaciones utilizadas para diseñar el clasificador. Este proceso se repite varias veces, seleccionado el valor de k que mejores prestaciones promedio ofrece sobre los conjuntos de validación. Este valor de k se utiliza para evaluar las prestaciones en test.

2.3. Auto-codificadores

Los auto-codificadores (AE, del inglés "auto-encoders") son una de las técnicas de aprendizaje automático no supervisado más relevantes dentro del aprendizaje profundo. Son redes neuronales entrenadas para generar un espacio latente, en general, de menor dimensión, que permita reconstruir una salida que sea lo más parecida posible a la entrada. Constan de una o varias capas de neuronas ocultas. En este trabajo, debido a que el número de variables a la entrada no es demasiado elevado, el AE constará de un única capa oculta y se implementará con el objetivo de transformar las características del espacio original de entrada [9] para lograr mejores tasas de acierto al emplear el clasificador *k*-NN.

3. Base de datos

Los datos utilizados para este estudio, proporcionados por el Hospital Universitario de Fuenlabrada, corresponden a la edad, diagnósticos y dispensación farmacológica de 197.208 pacientes durante un año. Los diagnósticos están codificados siguiendo la *Clasificación Internacional de Enfermedades, 9a Revisión* [10] (CIE9), mientras que los fármacos siguen el sistema de clasificación *Anatomical Therapeutic Chemical* [11] (ATC). Para que los mapas resultantes del AC fueran legibles, se ha prescindido de los diagnósticos y fármacos asociados a patologías comunes y se han seleccionado los 21 diagnósticos y 10 fármacos con mayor frecuencia al considerar los cuatro grupos de pacientes crónicos indicados en la Sección **1** (véase Tabla 1 y Tabla 2, respectivamente).

CIE-9	Descripción	CIE-9	Descripción
216	Neoplasia	599	Otros trastornos de uretra y tracto urinario
244	Hipotiroidismo	715	Osteoartrosis
250	Diabetes	726	Tendinitis
272	Trastornos de los lípidos	729	Trastornos en los tejidos blandos
278	Sobrepeso, obesidad	782	Síntomas de afectan a la piel
300	Ansiedad	786	Síntomas que implican al aparato respiratorio
305	Abuso drogas (sin dependencia)	787	Síntomas que afectan al aparato digestivo
366	Cataratas	788	Síntomas que afectan al aparato urinario
386	Vértigos, enfermedad de Menière	789	Dolor abdominal
401	Hipertensión	790	Hallazgos no específicos en análisis sangre
496	Obstrucción crónica vías respiratorias		

Tabla 1: Códigos CIE9 de los diagnósticos seleccionados.

ATC	Descripción
A02BC	Inhibidores de la bomba de protones (Omeprazol y similares)
A10AE	Insulina y análogos de acción prolongada para inyección
A10BA	Biguanidas
A10BD	Combinaciones de fármacos hipoglucemiantes orales
B01AC	Inhibidores de la agregación plaquetaria (excluyendo Heparina)
C08CA	Derivados de la dihidropiridina
C09AA	Inhibidores ECA, monofármacos
C10AA	Inhibidores de la HMG-CoA reductasa
J01CR	Asociaciones de penicilinas, incl. inhibidores de la beta-lactamasa
N05BA	Ansiolíticos

Tabla 2: Códigos ATC de los fármacos seleccionados.



Figura 1. Mapa de correspondencias entre estados de salud (CRG) y rangos de edad.

En total, nuestra base de datos contiene 12.447 pacientes clasificados con el CRG-5192, 2.166 con el CRG-5424, 3.179 con el CRG-6144 y 547 con el CRG-7071. Nótese que existe un importante desequilibrio en el número de pacientes por estado de salud, consecuencia de la diferente prevalencias de las diversas enfermedades crónicas y su combinación que puede influir al interpretar los resultados obtenidos al aplicar técnicas de aprendizaje automático. Para evitar que eso ocurra, se han seleccionado 547 pacientes al azar de cada CRG (tamaño del grupo minoritario, CRG-7071).

4. Resultados

Uno de los objetivos de este trabajo es analizar varios grupos de pacientes crónicos y establecer su relación con una serie de diagnósticos y fármacos seleccionados. Para ello, se realizan tres ACS, uno con cada tipo de variable (edad, diagnóstico, fármaco), considerando el estado de salud como variable común a los tres mapas de correspondencias. La Figura 1 muestra el mapa de correspondencias entre CRGs y edad. Para realizar el AC, la variable edad se ha discretizado en nueve categorías: 8 categorías de 10 años



Figura 2. Mapa de correspondencias entre CRG y CIE9.



Figura 3. Mapa de correspondencias CRG y ATC.

cada una (categoría "1" para <10 años; categoría "2", de 10 a 19 años, y así sucesivamente), y la categoría "9" (>80 años). Como primera aproximación, la "proximidad" entre puntos del mapa guarda relación con la asociación entre categorías.

El mapa de la Figura 1 muestra que los niños (edad inferior a 10 años) no están asociados con los grupos de pacientes crónicos considerados. Sin embargo, los grupos de adolescentes están muy próximos al CRG-5424, que considera pacientes diabéticos de Tipo I (también denominada diabetes juvenil), de Tipo II y diabetes gestacional. Los pacientes con edades comprendidas entre 40 y 49 años están más asociados al CRG-5192, que corresponde con el rango de edad en la que se suele diagnosticar la hipertensión por primera vez, aunque este grupo de edad se encuentra "a medio camino" entre el CRG-5192 y el CRG-5424. Obsérvese que, a medida que aumenta la edad, es mayor la asociación de estos grupos con los CRGs que incluyen 2 ó 3 enfermedades crónicas dominantes (CRG-6144 y CRG-7071). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos al analizar la variable edad, y a fin de descubrir nuevas asociaciones, se procede a analizar la asociación del estado de salud con diagnósticos y fármacos.

Analizando la Figura 2, es posible determinar asociaciones entre los 21 diagnósticos (véase Tabla 1) y los 4 CRGs considerados. El mapa refleja fuerte asociación entre pacientes hipertensos (CRG-5192) y diagnóstico de hipertensión ('401'), como era de esperar. Para una mejor visualización del mapa, los vectores con una longitud muy superior a la del resto (p.e. '401') tienen un trazo más grueso. Por otro lado, cabe destacar que los pacientes crónicos pueden ver mermada su calidad de vida y, como consecuencia, padecer ansiedad o depresión. Según el mapa, los pacientes hipertensos parecen ser los más afectados por este tipo de trastornos.

Respecto a los pacientes diabéticos (CRG-5424), se observa una fuerte asociación con el diagnóstico de diabetes ('250'). También existe cierta asociación con los síntomas que afectan al aparato digestivo ('787'), ya que algunos tratamientos para este tipo de pacientes incluyen anti-inflamatorios o corticoides que pueden provocar efectos gástricos. Los pacientes del CRG-5424 muestran asociación con trastornos de metabolismo de los lípidos ('272') por efecto de algún tratamiento distinto a los corticoides o antiinflamatorios. El diagnóstico '272' está incluso más asociado a pacientes del CRG-6144, probablemente por la alta relación clínica entre hipercolesterolemia y obesidad. Se observa también gran asociación entre neoplasias ('216') y el CRG-6144, lo que concuerda con el conocimiento clínico, ya que los pacientes con cáncer son más propensos a padecer simultáneamente diabetes e hipertensión.

El AC refleja la asociación entre el CRG-7071, que corresponde a crónicos complejos con diabetes, hipertensión y otra cronicidad, y la obstrucción crónica de las vías respiratorias ('496'). Esto parece razonable, al ser el EPOC la tercera cronicidad más frecuente en los pacientes del CRG-7071.

Nótese que, entre los diagnósticos considerados, algunos no tienen 'a priori' relación con las cronicidades seleccionadas en este trabajo: trastornos de tracto urinario ('599'), dolor abdominal ('789'), o síntomas que implican al aparato respiratorio ('786'), entre otros. Aunque podría tratarse de diagnósticos más asociados a pacientes crónicos que a pacientes sanos, el número de visitas es mayor cuando se padece alguna cronicidad. Ello hace que los pacientes crónicos acumulen más diagnósticos desde el punto de vista de registro de datos en su historia clínica.

Para determinar asociaciones entre CRGs y fármacos (Tabla 2), la Figura 3 muestra el mapa de correspondencias entre ambas variables. Se observa una fuerte asociación entre pacientes hipertensos (CRG-5192) e inhibidores ECA y monofármacos ('C09AA'), algo razonable al ser el tratamiento más habitual para tratar la hipertensión. El mapa también indica una asociación con los ansiolíticos ('N05BA'), relacionado directamente con la ansiedad que padecen la mayoría de pacientes crónicos, especialmente los hipertensos (en línea con los resultados de la Figura 2). Las asociaciones más fuertes se dan con la insulina ('A10AE'), biguanidas ('A10BA') e hipoglucemiantes ('A10BD'). El primer fármaco es el prescrito para tratar la diabetes Tipo I, mientras que los dos restantes ('A10BA' y 'A10BD') pueden ser utilizados para tratar la de Tipo II, pudiendo concluir que las



Figura 4. Diagramas de caja de la tasa de acierto en test al aplicar el clasificador k-NN sobre el espacio original y sobre los espacios transformados con el auto-codificador.

asociaciones mostradas en el mapa son correctas. Además, los pacientes que padecen diabetes de Tipo II suelen padecer hipercolestorelemia, lo que conduce a tratamientos que son combinaciones de fármacos hipoglucemiantes ('A10BD'). Esta asociación también se muestra en la Figura 3.

En cuanto a los pacientes complejos diabéticos e hipertensos (CRG-6144), se observa una importante asociación con los fármacos señalados para el CRG-5424. Además, es sabido que los pacientes con ambas cronicidades tienen más riesgo de sufrir infarto de miocardio o ictus, razón por la que el mapa muestra cierta asociación con los inhibidores de la agregación plaquetaria ('B01AC'). Al padecer hipertensión, también están asociados, aunque en menor medida, con los derivados de la dihidropiridina ('C08CA').

Por último, los pacientes crónicos complejos del CRG-7071 están asociados con los derivados de dihidropiridina ('C08CA'), utilizados para tratar la hipertensión. En el mapa también se observa cierta asociación con los ansiolíticos ('N05BA'). Al padecer tres enfermedades crónicas, estos pacientes se medican en altas cantidades y requieren de protectores gástricos como los inhibidores de la bomba de protones ('A02BC'), lo que se refleja en la Figura 3.

Tras el análisis exploratorio se diseñó un clasificador k-NN para determinar el estado de salud de los pacientes. En primer lugar, el clasificador se aplicó sobre el espacio original de 2.263 características (diagnósticos y fármacos), y posteriormente sobre las 31 características seleccionadas en las Tablas 1 y 2. Se encontraron resultados similares en ambos casos (tasa media de acierto en test de 66.65%), eligiendo por tanto el escenario con 31 características para reducir el coste computacional. A continuación, se realizaron dos transformaciones del espacio original de 31 características aplicando un AE. En ambos AEs, se consideró una única capa oculta con 6 y 31 neuronas, respectivamente. Los AEs, con función de activación sigmoidal, fueron entrenados utilizando como función de coste la entropía binaria cruzada. En la Figura 4 se muestra la distribución de la tasa de acierto en test al considerar 10 particiones diferentes de los datos y un clasificador k-NN, aplicado tanto sobre el espacio original como sobre el espacio transformado con 6 neuronas (tasa media de acierto de 65.58%) y 31 neuronas (tasa media de acierto de 68.35%) en la capa oculta del AE. Como

se observa en la Figura 4, la aplicación de un AE permite aumentar las prestaciones del clasificador casi en un 3%.

5. Conclusiones

La adecuada aplicación de esquemas de aprendizaje automático sobre datos registrados para pacientes crónicos permitiría identificar potenciales factores de riesgo y ofrecer al paciente crónico una proyección a corto plazo de su estado de salud. Ello permitiría poner en marcha sistemas que hagan participe al paciente del cuidado de su salud: la modificación del estilo de vida de pacientes diabéticos con hipertensión y obesidad podría ofrecer excelentes resultados.

Los resultados de este trabajo muestran la dificultad de diseñar modelos predictivos del estado de salud de pacientes crónicos complejos utilizando únicamente información relacionada con diagnósticos y fármacos. Los resultados sugieren que la aplicación de AE puede mejorar los resultados de clasificación obtenidos. Como línea futura se pretende incorporar variables como peso o presión arterial, entre otras, por estar relacionadas tanto con el estilo de vida del paciente como con el seguimiento clínico que de ellos realizan los profesionales de la salud, y que en los últimos años están siendo recogidas en la Historia Clínica Informatizada de AP gracias a las estrategias diseñadas para el abordaje de la cronicidad. Además, se evaluarán las prestaciones de otro tipo de AE, como los AE con ruido o los variacionales.

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

- Instituto Nacional de Estadística España. "Península Ibérica en cifras", 2018 (ISBN: 978-989-25-0467-4).
- [2] Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad. "Estrategia para el Abordaje de la Cronicidad en el Sistema Nacional de Salud", 2012 (NIPO: 680-12-062-1).
- [3] Sánchez, A., et al. Scaled radial axes for interactive visual feature selection: A case study for analyzing chronic conditions. Expert Syst Appl, 100, 182-196, 2018.
- [4] Página web de la Organización Mundial de la Salud. www.who.int/es (Consultada: Agosto 2019).
- [5] World Health Organization."Informe munidal sobre la diabetes", 2016.
- [6] Greenacre M.J. Correspondence Analysis. Academic Press, London, UK, 1984 (ISBN: 9781498731775).
- [7] Loftsgaarden D.O., Quesenberry C.P. A Nonparametric Estimate of a Multivariate Density Function, The Annals of Mathematical Statistics, 36(3),1049–1051, 1965.
- [8] Bishop C.M. Neural Networks for Pattern Recognition. Oxford University Press, 1995.
- [9] Miotto R and et al. Deep patient: An unsupervised representation to predict the future of patients from the electronic health records. *Scientific reports*, 2016.
- [10] Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad. Clasificación internacional de enfermedades 9.a revisión modificación clínica, 2012.
- [11] Página web de WHO Collaborating Centre for Drug Statistics. https://www.whocc.no/atc/structure_and_principles (Consultada: Septiembre 2019).